

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians Universität München

Synthese neuer Ligandoside mit σ -Donoreigenschaften und Einbau in Oligonukleotide

Christian Zöschinger

aus

Starnberg

2011

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 13 Abs. 3 bzw. 4 der Promotionsordnung vom 29. Januar 1998 (in der Fassung der sechsten Änderungssatzung vom 16. August 2010) von Prof. Dr. Thomas Carell betreut.

Ehrenwörtliche Versicherung

Diese Dissertation wurde selbstständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, den 05.12.2011

Christian Zöschinger

Dissertation eingereicht am: 05.12.2011

1. Gutachter: Prof. Dr. Thomas Carell

2. Gutachter: Prof. Dr. Konstantin Karaghiosoff

Mündliche Prüfung am: 27.01.2012

*Man muss nur wollen und daran
glauben, dann wird es gelingen.*

Ferdinand Graf von Zeppelin

Danksagung

Mein größter Dank gilt meinem Doktorvater *Prof. Dr. Thomas Carell*. Durch die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe ermöglichte er mir die Bearbeitung sehr interessanter Forschungsthemen unter hervorragenden Arbeitsbedingungen. Sein Optimismus und das in mich gesetzte Vertrauen haben entscheidend zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen.

Herrn *Prof. Dr. Konstantin Karaghiosoff* danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Bei dem gesamten AK *Carell* bedanke ich mich für die freundliche Aufnahme, zahlreiche fruchtbare Diskussionen und für die schöne Zeit. *Peter Thumbs*, *Korbinian Heil* und *Dr. Dave Pearson* danke ich für das Korrekturlesen. Bei *Dr. Milan Vrabel*, *Emine Kaya* und *Christian Deiml* bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit bei gemeinsamen Projekten. Meinem Labor F.4017 danke ich für griechische, italienische, englische und deutsche Musik und gelegentliche Entspannung am Mittagstisch. Frau *Slava Gärtner* danke ich für Ihre unkomplizierte Hilfe in sämtlichen bürokratischen Angelegenheiten.

Ich bedanke mich bei der Analytikabteilung des Departements Chemie und Pharmazie für das Messen meiner Proben. Herrn *Dr. David Stephenson* und Frau *Claudia Dubler* danke ich für die Aufnahme zahlreicher NMR-Spektren. Bei Herrn *Dr. Werner Spahl*, Frau *Sonia Kosak* sowie Frau *Brigitte Breitenstein* bedanke ich mich für die Aufnahme von noch mehr Massenspektren.

Besonderen Dank möchte ich auch an meine ganze Familie richten. Insbesondere meiner Frau *Sabine* und meinen Kindern *Lukas* und *Rebekka* danke ich nicht nur für viele glückliche Momente, sondern auch dass sie mir stets den Rücken gestärkt und mich angespornt haben. Ich danke euch!

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	VIII
Summary.....	XVI
1. Einleitung	1
1.1 Nukleinsäuren.....	1
1.2 DNA und Metalle.....	3
1.2.1 Bedeutung von Metallen in der Nukleinsäurechemie.....	3
1.2.2 Das Konzept der Metall-Basenpaare.....	4
1.2.3 <i>Backbone</i> -Metallisierung	13
1.2.4 Schwefelhaltige Nukleobasen.....	14
1.2.5 DNA in der Katalyse.....	16
1.3 Komplexchemie von σ -Donor-Liganden	18
1.3.1 <i>N</i> -Heterozyklische Carbene (NHC).....	18
1.3.2 Thiocarbonylverbindungen.....	20
1.3.2.1 Salze der Dithiocarbaminsäure und deren Ester.....	21
1.3.2.2 Thioharnstoffe.....	22
2. Aufgabenstellung.....	24
3. Ergebnisse und Diskussion.....	26
3.1 Entwicklung eines Metal-NHC-Basenpaares.....	26
3.1.1 Design eines Imidazolium-Ligandosids.....	26
3.1.1.1 Synthese des Phosphoramidits 31 für die DNA-Synthese.....	26
3.1.2 Einbau des Phosphoramidits 31 in Oligonukleotide.....	29
3.1.3 Schmelzkurvenexperimente.....	31
3.1.4 Studien zum Komplexierungsverhalten.....	33

3.2 Herstellung von imidazolium- und thiazoliummodifizierten Oligonukleotiden	
als Vorstufen neuer Hybridkatalysatoren.....	35
3.2.1 Synthese des Imidazoliumsalze 38 und 39	36
3.2.2 Click Chemie der von 38 und 39 mit Alkin-DNA	
sowie 40 mit Azid-DNA	38
3.2.3 Experimente zur Darstellung von NHC-Komplexen auf DNA-Basis.....	40
3.2.4 Herstellung eines neuen DNA Hybridkatalysators auf Thiamin-Basis.....	40
3.2.4.1 Synthese von Thiamin Azid 46	41
3.2.4.1.1 Retrosynthetische Überlegungen.....	41
3.2.4.1.2 Synthese des Pyrimidin-Derivats 47	42
3.2.4.1.3 Synthese des Thiazol-Derivats 48	43
3.2.4.1.4 Synthese der Zielverbindung 46	44
3.2.4.2 Click-Experimente.....	45
3.3 Entwicklung eines schwefelhaltigen Metall-Basenpaars.....	46
3.3.1 Versuche zur postsynthetischen Darstellung von	
dithiocarbamatmodifizierter DNA	46
3.3.2 Entwicklung eines Metall-S-Methyl-dithiocarbamat (MDTC)-Basenpaars	47
3.3.2.1 Überlegungen zur Synthese von S-Methyl-dithiocarbamat-	
modifizierter DNA.....	47
3.3.3 Synthese des Phosphoramidits 63 für die DNA-Synthese.....	50
3.3.3.1 Synthese des S-Methyl-dithiocarbamats (MDTC) 59	50
3.3.3.2 Synthese des Phosphoramidits 63	54
3.3.3.3 Alternative Syntheseroute zu 62	55
3.3.4 Komplexierungsverhalten des S-Methyl-dithiocarbamats 59	56
3.3.4.1 Verhalten gegenüber Ag ⁺ -Ionen.....	57
3.3.4.2 Verhalten gegenüber Pd ²⁺ -Ionen	60
3.3.4.3 Verhalten gegenüber Au ³⁺ - und Au ⁺ -Ionen.....	64

3.3.5 Synthese von <i>S</i> -Methyl-dithiocarbamatmodifizierten Oligonukleotiden	68
3.3.5.1 Voruntersuchungen.....	68
3.3.5.1.1 Verhalten von 80 gegenüber DNA-Synthesebedingungen.....	68
3.3.5.2 DNA-Festphasensynthese mit Phosphoramidit 63	73
3.3.5.3 Untersuchungen zum Komplexierungsverhalten von <i>S</i> -Methyl-dithiocarbamatmodifizierter Oligonukleotide.....	78
3.4 Entwicklung eines Thioharnstoff-Liganden.....	79
3.4.1 Studien zum Komplexierungsverhalten des Thioharnstoff-Liganden 83	81
3.5 Synthese eines <i>L</i> -Lysin-Derivats 91 mit Aldehydfunktion zur sequenzspezifischen Modifizierung von Proteinen.....	85
3.5.1 Design des <i>L</i> -Lysin-Derivats 91 und retrosynthetische Überlegungen	85
3.5.1.1 Synthese des <i>L</i> -Lysin-Derivats 91	86
3.5.2 Einbau von 91 in YFP.....	89
3.6 Proteinmodifizierung mittel Cu ^I katalysierter Click Chemie	89
3.6.1 Synthese des Azids 99	89
3.6.2 Click Chemie von Alkin-YFP und 99	91
4. Fazit und Ausblick.....	92
5. Experimenteller Teil.....	94
5.1 Material und Methoden.....	94
5.2 Synthese der Oligonukleotide und biochemische Arbeiten.....	98
5.3 Synthesevorschriften.....	108
5.3.1 Synthese des Imidazolium-Phosphoramidits 31	108
5.3.1.1 (<i>S</i>)-2-((Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)-methoxy)-methyl)oxiran 33 ⁵³	108
5.3.1.2 (<i>S</i>)-1-(Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)-methoxy)-3- (1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)propan-2-ol 35	109
5.3.1.3 ((<i>S</i>)-1-(3-(Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-2-hydroxypropyl)-3- methyl-1 <i>H</i> -imidazoliumiodid 36	110

5.3.1.4 Phosphoramidit 31	111
5.3.1.5 (S)-3-(1 <i>H</i> -Imidazol-1-yl)propan-1,2-diol 37	112
5.3.1.6 (S)-1-(2,3-Dihydroxypropyl)-3-methyl-1 <i>H</i> -imidazoliumiodid 30	113
5.3.2 Synthese von Thiamin Azid 46	114
5.3.2.1 Synthese des Thiazol-Derivats 48	114
5.3.2.1.1 2-(4-Methylthiazol-5-yl)ethylmethansulfonat 57 ¹⁸⁶	114
5.3.2.1.2 5-(2-Azidoethyl)-4-methylthiazol 48	115
5.3.2.2 Synthese des Pyrimidin-Derivats 47	117
5.3.2.2.1 5-(Ethoxymethyl)-2-methylpyrimidin-4-ol 53 ¹⁸⁷	117
5.3.2.2.2 4-Chlor-5-(ethoxymethyl)-2-methylpyrimidin 54 ¹⁸⁷	118
5.3.2.2.3 5-(Ethoxymethyl)-2-methylpyrimidin-4-amin 55 ¹⁸⁷	119
5.3.2.2.4 5-(Brommethyl)-2-methylpyrimidin-4-amin Hydrobromid 47 ¹⁸⁷	120
5.3.2.2.5 Thiamin Azid Hydrobromid 46	121
5.3.3 Synthese des <i>L</i> -Lysin-Derivats 91	122
5.3.3.1 2-(1,3-Dioxan-2-yl)benzaldehyd 95 ¹⁸⁸	122
5.3.3.2 [2-(1,3-Dioxan-2-yl)phenyl]methanol 96	123
5.3.3.3 2-(1,3-Dioxan-2-yl)benzyl chloroformiat 92	124
5.3.3.4 <i>tert</i> -Butoxycarbonyl- <i>N</i> ^ε - <i>o</i> -1,3-dioxan-2-yl-oxycarbonyl- <i>L</i> -lysin 97	124
5.3.3.5 <i>tert</i> -Butoxycarbonyl- <i>N</i> ^ε - <i>o</i> -formylbenzyloxycarbonyl- <i>L</i> -lysin 98	125
5.3.3.6 <i>o</i> -Formylbenzyloxycarbonyl- <i>N</i> ^ε - <i>L</i> -Lysin 91	126
5.3.4 Synthese des azidmodifizierten Pyrrolidin-3,4-diols 99	127
5.3.4.1 1-(2-Bromomethyl)-2,5-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol 102	127
5.3.4.2 1-(2-Azidoethyl)-2,5-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol 103	128
5.3.4.3 (3 <i>R</i> , 4 <i>S</i>)-1-(2-Azidoethyl)pyrrolidin-3,4-diol 99	129
5.3.5 Synthese der Methylcarbamodithioate 80 und 111	130
5.3.5.1 Methyl 2,3-dihydroxypropylcarbamodithioat 80 ¹⁸⁹	130

5.3.5.2 Methyl (3-(bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-2-hydroxypropyl)carbamodithioat 111	131
5.3.6 Synthese des <i>S</i> -Methyl-dithiocarbat Phosphoramidits 63	132
5.3.6.1 <i>tert</i> -Butyl-(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-3-oxo-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carboxylat 67 ¹⁴³	132
5.3.6.2 <i>tert</i> -Butyl-(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-7-oxo-3-oxa-6-azatricyclo[3.2.1. ^{2,4}]octan-6-carboxylat 68 ¹⁴³	133
5.3.6.3 <i>tert</i> -Butyl-((1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-4-(hydroxymethyl)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexan-2-yl)carbat 69 ¹⁴³	134
5.3.6.4 <i>tert</i> -Butyl-N-[(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-4-[(<i>tert</i> -butyldimethylsilyloxy)methyl]-6-oxabicyclo[3.1.0]hex-2-yl] carbat 70 ¹⁴³	135
5.3.6.5 <i>tert</i> -Butyl-N-[(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-3-hydroxy-4-(hydroxymethyl)cyclopentyl]-carbat 61 ¹⁴³	136
5.3.6.6 Methyl((1 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-3-hydroxy-4-(hydroxymethyl)cyclopentyl)-carbamodithioat 58	137
5.3.6.7 Methyl 3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-hydroxycyclopentylcarbamodithioat 62	139
5.3.6.8 Phosphoramidit 63	140
5.3.7 Synthese des Thioharnstoff-Derivats 83	141
5.3.7.1 1-((1 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-3-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)cyclopentyl)-thioharnstoff 83	141
5.3.8 Synthese der Azide 38, 39 und 40	142
5.3.8.1 5-(2-Azidoethyl)-4-methylthiazoliumiodid 40	142
5.3.8.2 2-(1 <i>H</i> -Imidazol-1-yl)ethyl methansulfonat 42	143
5.3.8.3 1-(2-Azidoethyl)-1 <i>H</i> -imidazol 43	144
5.3.8.4 1-(2-Azidoethyl)-1 <i>H</i> -imidazoliumiodid 38	145
5.3.8.5 1-(Prop-2-ynyl)-1 <i>H</i> -imidazol 44 ¹³⁷	145

5.3.8.6 1-(Prop-2-ynyl)-1 <i>H</i> -imidazoliumiodid 39	146
5.3.9 Komplexierungsstudien	147
5.3.9.1 Umsetzungen mit Verbindung 58	147
5.3.9.1.1 Ag ^I - und Au ^I - Verbindungen.....	147
5.3.9.1.2 Pd ^{II} - und Au ^{III} - Verbindungen.....	149
5.3.9.2 Umsetzungen mit Verbindung 77	150
5.3.9.2.1 Pd ^{II} -, Au ^{III} - und Rh ^{III} -Verbindungen	150
5.3.9.3 Umsetzungen mit Verbindung 83	153
5.3.9.3.1 Pd ^{II} -, Au ^I - und Ag ^I - Verbindungen.....	153
5.3.10 Synthese sonstiger Verbindungen.....	154
5.3.10.1 Alternative Synthese von 62	154
5.3.10.1.1 <i>N</i> -((1 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)- 4-hydroxycyclopentyl)-2,2,2-trifluoroacetamid 65	154
5.3.10.1.2 Methyl 3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4- hydroxycyclopentylcarbamidithioat 62	156
5.3.10.2 Synthese von Thioharnstoff-Derivaten mit azyklischem Rückgrat	157
5.3.10.2.1 (<i>R</i>)-(9 <i>H</i> -Fluoren-9-yl)-(2,3-dihydroxypropyl)thioharnstoff 113	157
5.3.10.2.2 (<i>R</i>)-(9 <i>H</i> -Fluoren-9-yl)-(3-(bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)- methoxy)-(2-hydroxypropyl)thioharnstoff 114	158
5.3.10.3 Synthese der Phosphoramidite 105 und 106 für die DNA-Synthese	159
5.3.10.3.1 (<i>S</i>)-(9 <i>H</i> -Fluoren-9-yl)methyl(2,3-dihydroxypropyl)- carbamate 115 ¹⁹⁰	160
5.3.10.3.2 (<i>S</i>)-(9 <i>H</i> -Fluoren-9-yl)methyl (3-(bis(4-methoxyphenyl)- (phenyl)methoxy)-2-hydroxypropyl)carbamate 116 ¹⁹¹	161
5.3.10.3.3 Phosphoramidit 105	162
5.3.10.3.4 (<i>S</i>)-Allyl (2,3-dihydroxypropyl)carbamate 117	162

5.3.10.3.5 (<i>S</i>)-Allyl (3-(bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-2-hydroxypropyl)carbamate 118	163
5.3.10.3.6 Phosphoramidit 106	164
5.3.11 Synthese eines Aktivesters für die postsynthetische Modifizierung von Amino-DNA	166
5.3.12 Synthese verschiedener imidazolmodifizierter Azid-Precursor und Alkin-Precursor für die Click Chemie	168
5.3.12.1 Synthese von 4-(4-Bromphenyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -imidazol 121 ¹⁹³	168
5.3.12.2 Synthese von 1-(4-Bromphenyl)-1 <i>H</i> -imidazol 124 ¹⁹⁴	169
5.3.12.3 Synthese von 1-Methyl-6-brombenzimidazol 125 ¹⁹⁵	170
5.3.12.4 Synthese von (1-Methyl-1 <i>H</i> -imidazol-5-yl)methanol 128 ¹⁹⁶	173
5.3.12.5 Synthese von 4-Iod-1-tosyl-1 <i>H</i> -imidazol 131 ¹⁹⁷	175
5.3.13 Synthese der H-Phosphonat Azide 108 und 135 für die DNA-Synthese	178
5.3.13.1 Triethylammonium 6-Azidohexyl phosphonat 135	178
5.3.13.2 Triethylammonium (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(5-(5-Azidopent-1-yn-1-yl)-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2 <i>H</i>)-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-yl phosphonat 108	181
6. Abkürzungsverzeichnis	188
7. Quellenangaben	192

Zusammenfassung

Die Modifizierung von Biomolekülen wie Oligonukleotide der 2'-Desoxyribose (DNA) sowie von Proteinen ist mittlerweile ein rasch expandierendes Forschungsgebiet. Auf diese Weise sind Strukturen zugänglich, die zum Beispiel Anwendungen in der Materialwissenschaft finden können oder zu therapeutischen Zwecken eingesetzt werden können. Im Fall von DNA-Modifizierungen spielen künstliche, ligandenähnliche Nukleobasen eine wichtige Rolle, um Metallionen innerhalb eines DNA-Doppelstrangs zu koordinieren. Auf diese Art können Metall-Basenpaare, d.h. Nanostrukturen mit definierten Eigenschaften, wie etwa elektrische Leitfähigkeit, Magnetismus oder katalytische Funktion erhalten werden. Mittlerweile gibt es eine Vielzahl solcher künstlich hergestellter Nukleobasen, mit denen auch eine kontrollierte Stapelung mehrerer und teilweise verschiedener Metallionen in der DNA gelang. Das Konzept der Metall-Basenpaare kann durch Verwendung von weichen Liganden und der damit verbundenen Möglichkeit, weiche Metallionen wie zum Beispiel Pd^{2+} , zu koordinieren, erweitert werden. Durch den Einbau von Metallionen mit NMR-aktiven Kernen besteht ferner die Möglichkeit, die entsprechenden Oligonukleotide durch NMR-Experimente zu charakterisieren. In diesem Zusammenhang sind *N*-heterozyklische Carbene (NHC) sowie schwefelhaltige Liganden, etwa Dithiocarbamate (DTC) sowie deren Ester als neue künstliche Nukleobasen von Bedeutung. Aufgrund der Tatsache, dass NHC eine Schlüsselrolle in der Katalyse eingenommen haben ist eine Kombination selbiger mit DNA ein Schritt in Richtung metallisierter und katalytisch aktiver DNA. Dabei ist in diesem Zusammenhang auch die Bildung von DNA-Hybridkatalysatoren auf NHC-Basis denkbar, die *via* Cu^{I} katalysierter Click Chemie – einem unentbehrlich gewordenen Werkzeug zur Modifizierung nicht nur von Biomolekülen – realisiert werden können. Zwar ist mittels Cu^{I} katalysierter Click Chemie auch die bezüglich Selektivität deutlich kompliziertere Modifizierung von Proteinen möglich, doch wirken sich die eingesetzten cytotoxischen Cu^+ Ionen oftmals störend aus. Entwicklungen zum Einbau von bereits unnatürlichen und bereits modifizierten Aminosäuren in Proteine, beispielsweise mit Hilfe der *Amber Suppressor* Technik, haben einen wesentlichen Beitrag zur Modifizierung von Proteinen geleistet. Damit einhergehend wurden Türen für breite Anwendungsmöglichkeiten, zum Beispiel in der medizinischen Therapie oder in der Katalyse, geöffnet.

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl Möglichkeiten zur Modifizierung von DNA als auch von Proteinen näher untersucht. Zur Erweiterung des Konzepts der Metall-Basenpaare wurde – wie in *Abb. 1* gezeigt – ein Phosphoramidit **31** auf GNA-Basis synthetisiert, das eine NHC-Vorstufe darstellt.

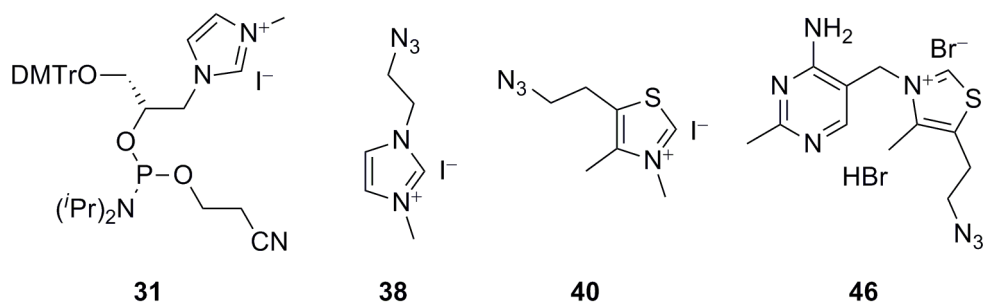


Abb. 1: Strukturen des synthetisierten Phosphoramidits **31** für die DNA-Festphasensynthese und der synthetisierten Verbindungen **38**, **39** sowie **46** zur postsynthetischen Modifizierung von Oligonukleotiden *via* Cu^{I} katalysierter Click Chemie.

Der Einbau der Verbindung **31** in Oligonukleotide gelang *via* automatisierter DNA-Festphasensynthese. Die modifizierten DNA-Stränge wurden mittels HPLC gereinigt und mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie (*Abb. 2*) sowie enzymatischem Totalverdau charakterisiert.

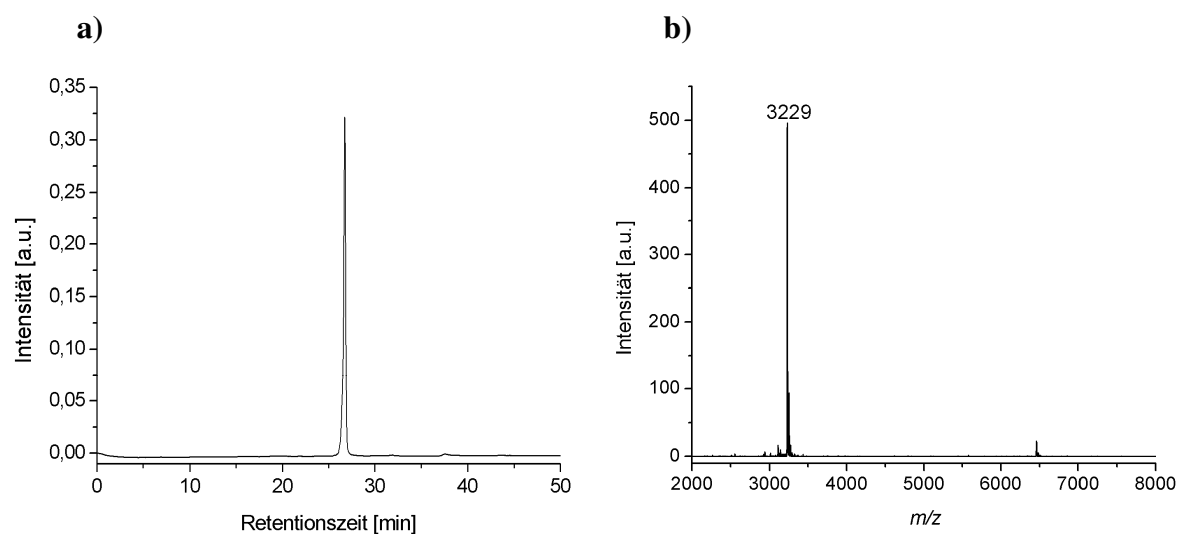


Abb. 2: a) HPL-Chromatogramm von gereinigter, imidazoliummodifizierter DNA sowie b) zugehöriges MALDI-TOF-Spektrum.

Durch Umsetzungen dieser modifizierten Oligonukleotide mit basischen Silbersalzen sowie durchgeführte Transmetallisierungsreaktionen mit Pd^{2+} -Ionen konnte die Bildung der entsprechenden Metall-NHC-Basenpaare jedoch nicht nachgewiesen werden.

Zur Bildung von NHC-Hybridkatalysatoren auf DNA-Basis wurden die Verbindungen **38** und **39** erfolgreich synthetisiert (Abb. 1). Die Modifizierung von Oligonukleotiden mit diesen Verbindungen *via* Cu^{I} katalysierter Click Chemie verlief erfolgreich. Entsprechende Hybridkatalysatoren konnten – ebenfalls durch Umsetzungen mit basischen Silbersalzen sowie Transmetallierungen – hingegen nicht erhalten werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde zusätzlich ein bislang nicht beschriebenes Thiamin-Derivat **46** synthetisiert. Dieses konnte ebenfalls erfolgreich zur Modifizierung von Oligonukleotiden mittels Click Chemie eingesetzt werden.

Zur Entwicklung schwefelhaltiger Metall-Basenpaare konnte die Synthese eines geeigneten Ligandosids **58** auf Basis eines sekundären *S*-Methyl-dithiocarbamats (MDTC) mit carbozyklischem Rückgrat ausgearbeitet werden. Diese Verbindung wurde – wie in Abb. 3 gezeigt – als wichtige Zwischenstufe für verschiedene Experimente und Umsetzungen eingesetzt.

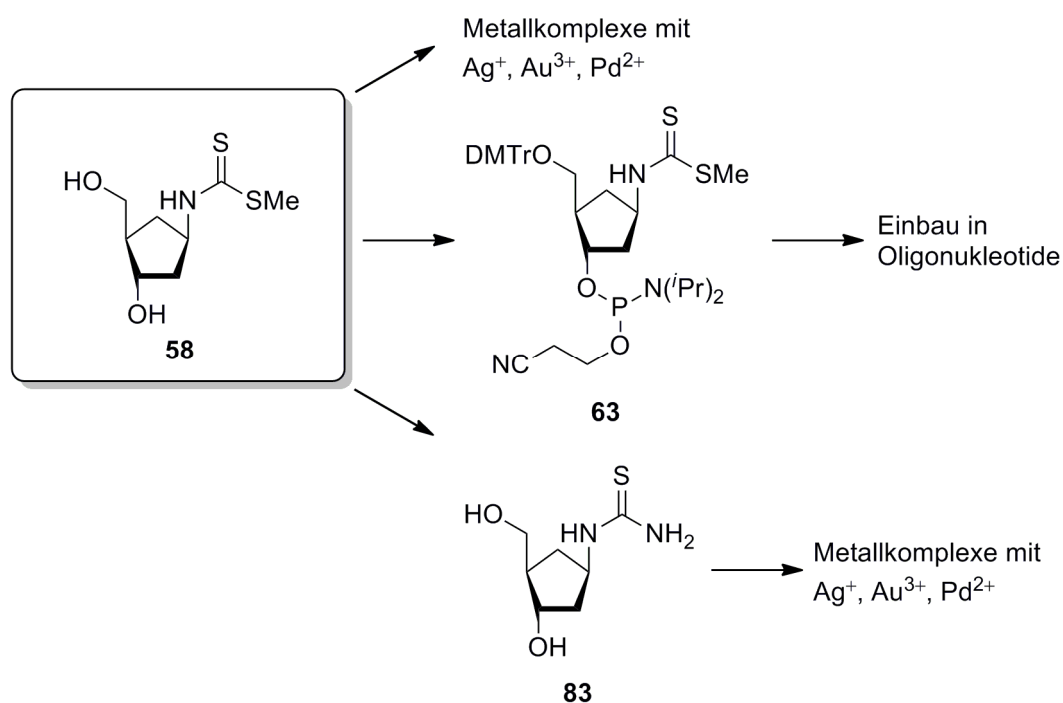


Abb. 3: Verwendungsmöglichkeiten der Schlüsselverbindung **58**.

Es konnte gezeigt werden, dass die Verbindung **58** in Wasser mit Ag^+ -Ionen 2:1 Komplexe vom Typ $[\text{Ag}(\text{MDTC})_2]^+$ ausbildet. In Wasser durchgeführte Titrations mit Pd^{2+} -Ionen zeigten ebenfalls die Bildung eines 2:1 Komplexes (Abb. 4). Aufgrund von ^1H -NMR-Experimenten konnten Demethylierungen beobachtet werden, wodurch von der Bildung entsprechender $\text{Pd}(\text{DTC})_2$ Komplexe auszugehen ist. Allerdings konnte die Verbindung nicht mittels ESI-MS nachgewiesen werden.

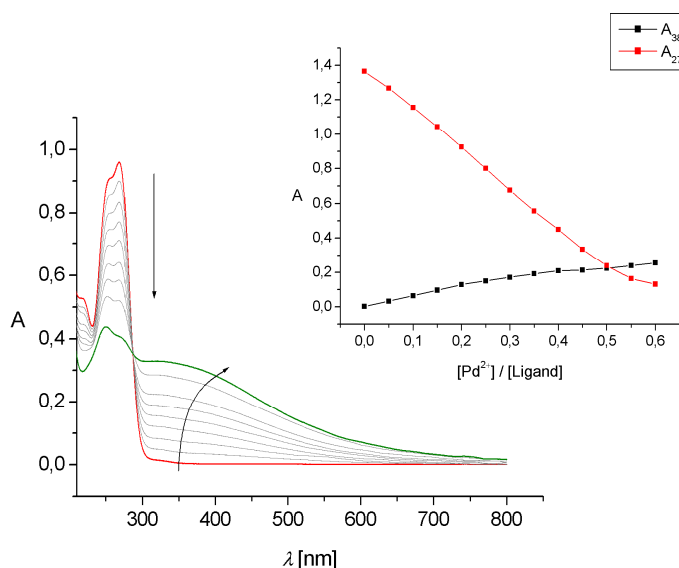


Abb. 4: Titration von **58** mit Pd^{2+} in Schritten von 0.1 eq. Inset: Auftragung der Absorptionen bei 270 nm sowie 385 nm gegen die Äquivalente an Pd^{2+} .

Gleiche Ergebnisse wurden durch Umsetzungen mit Au^{3+} -Ionen in Wasser erhalten. Die entsprechende Komplexverbindung vom Typ $[\text{Au}(\text{DTC})_2]^+$ konnte ferner mittels ESI-MS nachgewiesen werden. Ligandosid **58** ist somit zur Koordination verschiedener Metallionen unter Ausbildung verschiedener Geometrien befähigt.

Die Synthese des Phosphoramidits **63** erlaubte den Einbau der *S*-Methyl-dithiocarbamat-Funktion in Oligonukleotide *via* automatisierter DNA-Festphasensynthese. Der Einbau künstlicher Nukleobasen mit zwei unterschiedlich gebundenen Schwefelatomen ist in der Literatur bislang nicht beschrieben worden. Allerdings kam es zur Bildung weiterer Produkte, bei denen es sich vermutlich um einen Iminoethioether (Produkt **A**) und ein *S*-Methyl-thiocarbamat (Produkt **B**) handelt (Abb. 5). Die unterschiedlich modifizierten Oligonukleotide wurden mittels HPLC gereinigt und mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie sowie enzymatischem Totalverdau charakterisiert.

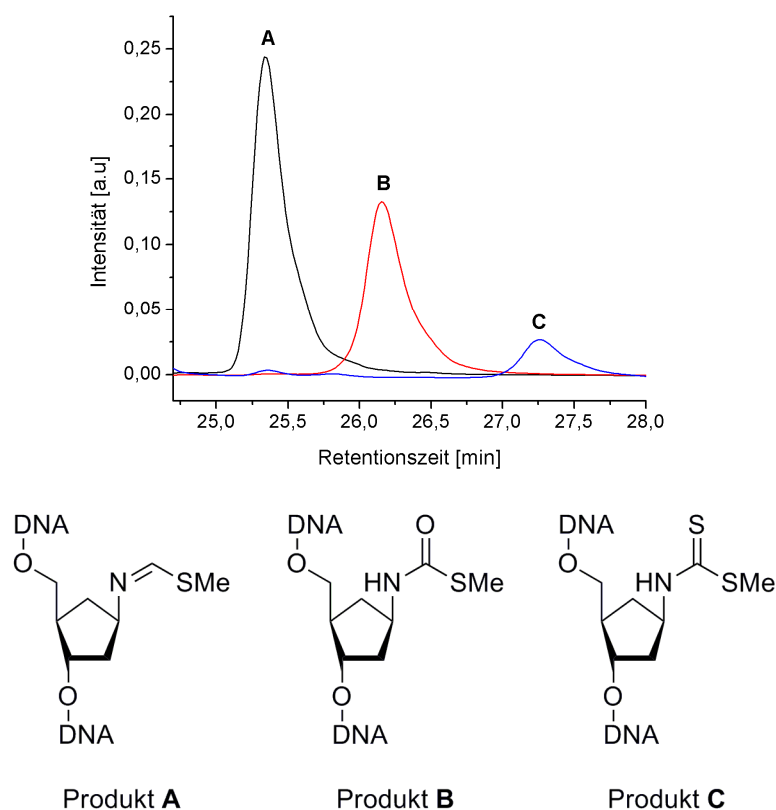


Abb. 5: HPL-Chromatogramme der durch Einbau von Phosphoramidit **63** in Oligonukleotide erhaltenen Produkte sowie dazugehörige Strukturvorschläge.

Durch kontrollierte nukleophile Substitution der SCH₃-Gruppe mit wässrigem NH₃ konnte ausgehend von **58** die ebenfalls als Ligandosid einsetzbare Verbindung **83** – ein Thioharnstoff (TH)-Derivat mit carbozyklischem Rückgrat – erhalten werden (Abb. 3). In Wasser durchgeführte Titrationen mit Ag⁺-Ionen zeigten, dass wie erwartet 2:1 Komplexe vom Typ [Ag(TH)₂]⁺ gebildet werden (Abb. 6). Diese Komplexverbindung konnte auch mittels ESI-MS nachgewiesen werden. Titrationen von **83** mit Pd²⁺-Ionen sowie Au³⁺-Ionen in Wasser zeigten aber nicht die Bildung des erwarteten 4:1 Komplexes [Pd(TH)₄]²⁺ bzw. 2:1 Komplexes [Au(TH)₂]⁺. Vielmehr stellte sich heraus, dass der Ligand **83** sehr empfindlich gegenüber beiden Metallionen reagierte und deutliche Abnahmen der Absorption des Liganden bereits durch Zugabe sehr geringer Mengen verursacht wurden. Beide Komplexverbindungen [Pd(TH)₄]²⁺ und [Au(TH)₂]⁺ konnten synthetisiert und mittels ESI-MS nachgewiesen werden.

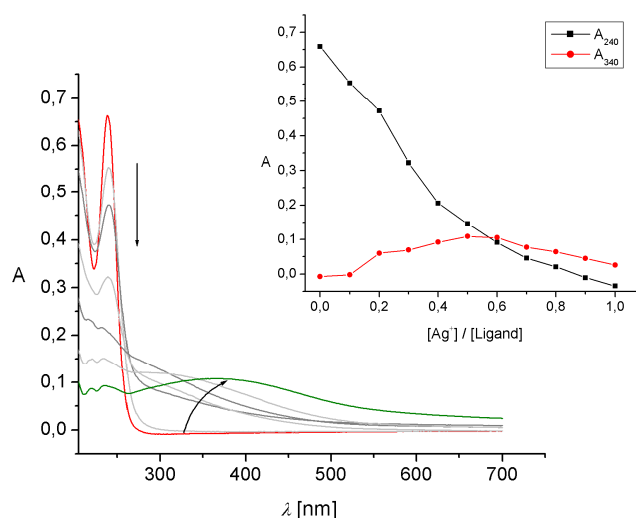


Abb. 6: Titration von **83** mit Ag^+ in Schritten von 0.1 eq. Inset: Auftragung der Absorptionen bei 240 nm sowie 340 nm gegen die Äquivalente an Ag^+ .

In der vorliegenden Arbeit wurden ferner Experimente zur Modifizierung des YFP (*yellow fluorescent protein*) durchgeführt. Es sollte die selektive Einführung von Carbonylgruppen erreicht werden, die weitere Modifizierungen – beispielsweise Bildung von Oximen – auf postsynthetischem Wege erlauben. In diesem Zusammenhang wurden zwei verschiedene Möglichkeiten der Proteinmodifizierung untersucht, dementsprechend erfolgte zunächst die Synthese beider dafür benötigter Moleküle, die in Abb. 7 gezeigt sind.

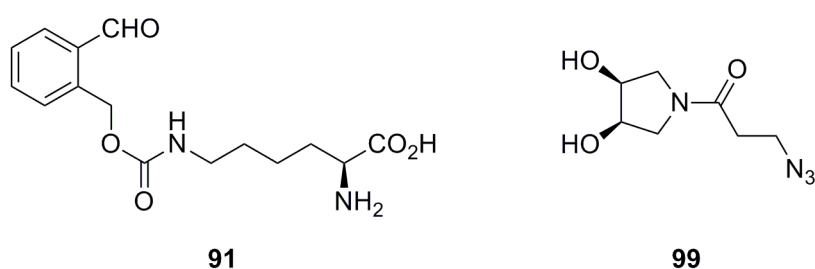


Abb. 7: Zur Modifizierung von YFP synthetisierte Moleküle.

Der Einbau der modifizierten Aminosäure **91** in YFP konnte mittels *Amber Suppressor* Technik erfolgreich durchgeführt werden. Allerdings war dieser unter den getesteten Bedingungen nicht effizient genug, um ausreichende Mengen an modifiziertem Protein für weitere Experimente zu erhalten, wie sich anhand von Messungen mit dem Fluoreszenzmikroskop herausstellte (Abb. 8).

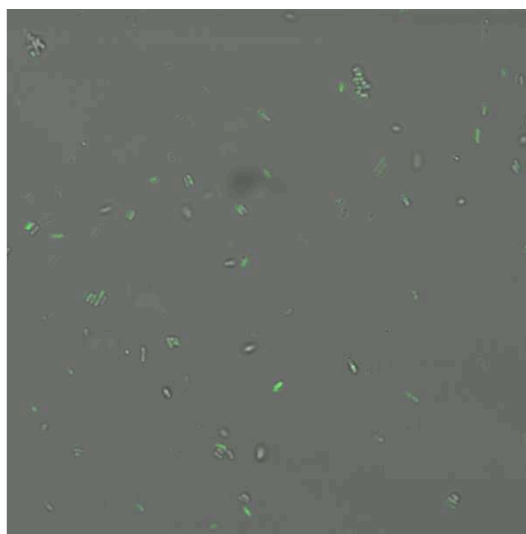


Abb. 8: Fluoreszenzmikroskop-Aufnahme nach Einbau von **91** in YFP .

Für die postsynthetische Funktionalisierung von YFP mittels Cu^{I} katalysierter Click Chemie wurde das Diol **99** (*Abb. 7*) eingesetzt, das nach Periodat-Spaltung einen entsprechenden Dialdehyd liefert, der weitere Umsetzungen und somit Modifizierungen erlaubt. Einleitende Click-Experimente waren jedoch nicht erfolgreich, unter Verwendung der etablierten Reaktionsbedingungen kam es zur Präzipitation des Proteins.

Summary

The modification of biomolecules such as oligonucleotides and proteins is a burgeoning field of research that opens doors to new structures with possible applications in material science and as therapeutics. In the case of modified DNA, artificial ligand-like nucleobases currently play an important role in coordinating metal ions inside a DNA duplex. In this way, nanostructures with particular properties, such as electric conductivity, magnetism or catalytic properties should be obtainable. Numerous artificial nucleobases already exist and a controlled stacking of partially different metal ions inside a DNA duplex was already successfully achieved with some of them. In order to expand the field of metal base pairs, soft ligands can be used to coordinate soft metal ions, e.g. Pd^{2+} , according to the HSAB principle. Pd^{2+} is of particular importance in catalysis and additionally has an NMR active nucleus. NMR spectroscopy is an additional tool for the characterization for the corresponding oligonucleotide species. In this context *N*-heterocyclic carbene (NHC) ligands as well as sulfur containing ligands, for example dithiocarbamates (DTC) and their esters can be used for complexation of soft metal ions. As NHC ligands have a key role in catalysis, their combination with oligonucleotides is a step forward towards catalytically active DNA. This approach can be realized by combining NHC ligands and DNA using Cu^{I} catalyzed Click chemistry. This reaction also enables specific modification of proteins, which is rather difficult. The use of Cu^{I} is in addition often problematic due to its cytotoxicity. Therefore, novel methods for the modification of proteins have been developed, for example the incorporation of artificial amino acids into proteins *via* the *amber suppressor* technique. In this way, proteins will become available that are of growing interest not only in the laboratory but also in medicine and industry.

Within this work the possibility to modify both, oligonucleotides and proteins was investigated. In order to expand the concept of metal-mediated base pairing in DNA by introducing σ -donating ligands, phosphoramidite **31**, which is a precursor for NHC complexes, was synthesized (*Fig. 1*).

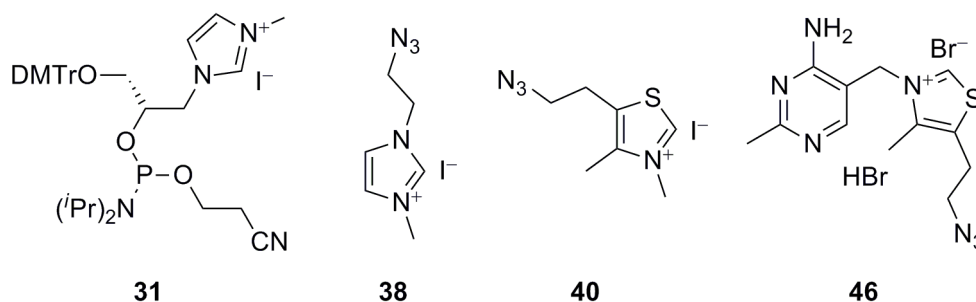


Fig. 1: Structures of synthesized phosphoramidite **31** for automated solid phase DNA synthesis and synthesized compounds **38**, **39** and **46** for the postsynthetic modification of oligonucleotides *via* Cu^I catalyzed Click chemistry.

Compound **31** could be incorporated into oligonucleotides *via* automated solid phase DNA synthesis. After purification of the modified strands by HPLC they were characterized using MALDI-TOF mass spectrometry (**Fig. 2**) as well as enzymatic digestion.

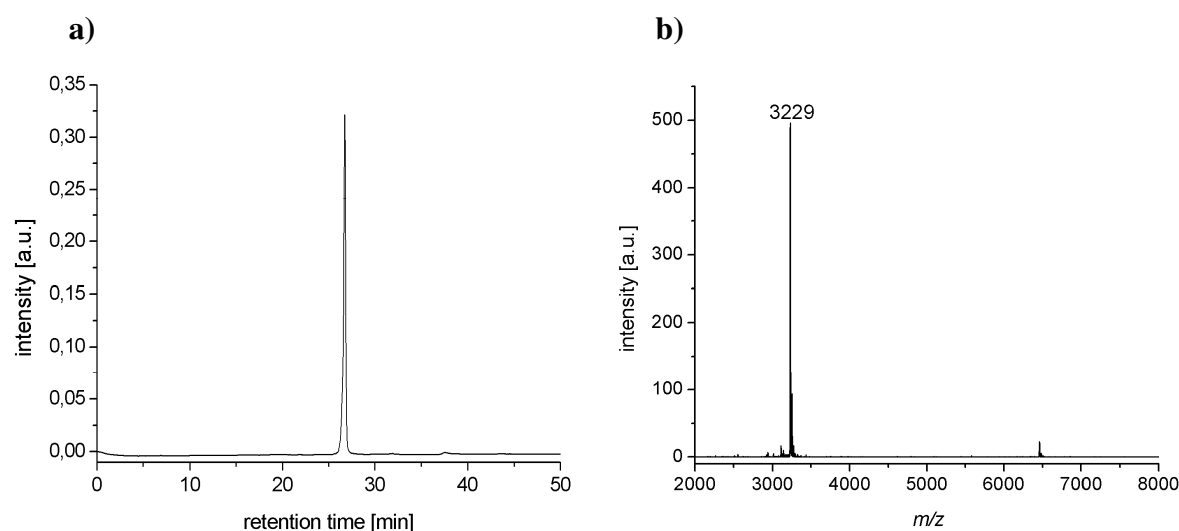


Fig. 2: a) HPL chromatogram of imidazolium-modified DNA after purification and b) corresponding MALDI-TOF spectrum.

Unfortunately, reactions with basic silver salts as well as transmetallation experiments with Pd²⁺-ions did not lead to the desired new metal base pair.

On the way to new DNA based NHC hybrid catalysts the compounds **38** and **40** (*Fig. 1*) were successfully synthesized and attached to oligonucleotides *via* Click chemistry. However, formation of the corresponding hybrid catalysts as a result of treating both NHC precursor molecules with basic silver salts did not take place. The novel synthesis of thiamin derivative **46**, which is a precursor of a natural carbene was also performed. It was possible to attach this molecule to DNA *via* Click chemistry.

Concerning the development of sulfur containing metal base pairs, a suitable secondary *S*-methyl DTC (MDTC) **58** was synthesized. This compound was used as an important intermediate for further experiments as shown in *Fig. 3*.

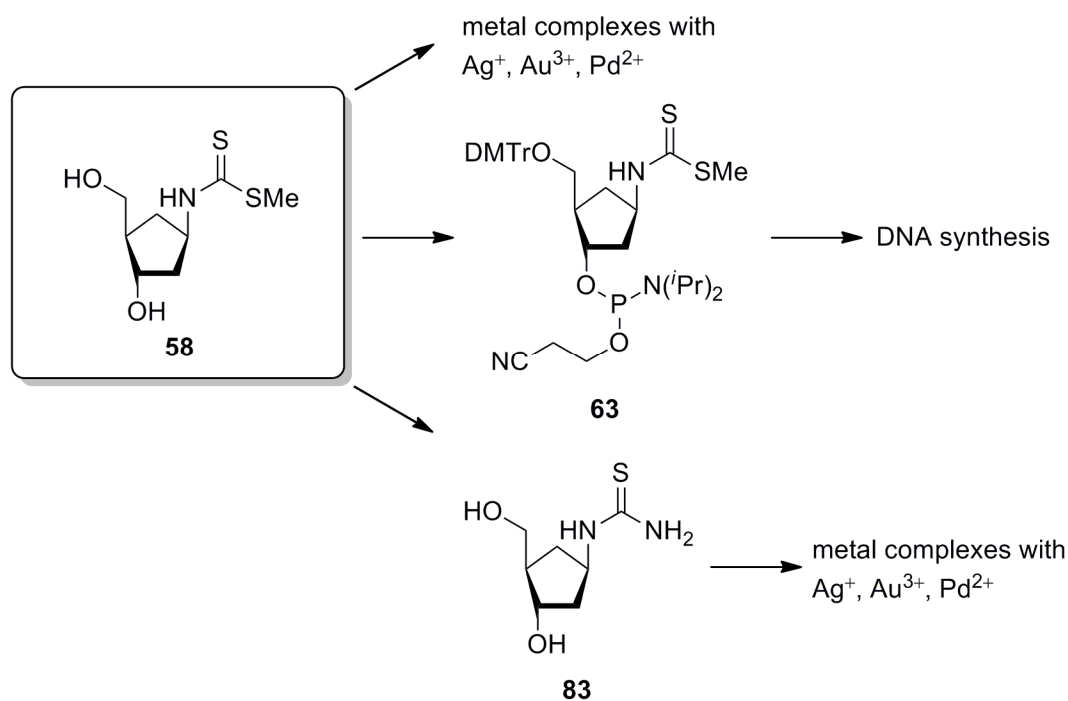


Fig. 3: Structure of compound **58** and different possibilities for its use.

It could be shown that in the presence of Ag^+ -ions **58** is able to form 2:1 complexes of the type $[\text{Ag}(\text{MDTC})_2]^+$ in water. This was confirmed by ^1H -NMR- and IR-spectroscopy as well as ESI-MS. UV/Vis titrations in water using Pd^{2+} -ions also showed the formation of a 2:1 ligand:metal complex (*Fig. 4*). By use of ^1H -NMR experiments it was found that demethylation reactions occurred, which means that a corresponding DTC complex $\text{Pd}(\text{DTC})_2$ was formed. However, it was not possible to confirm this complex formation using ESI-MS.

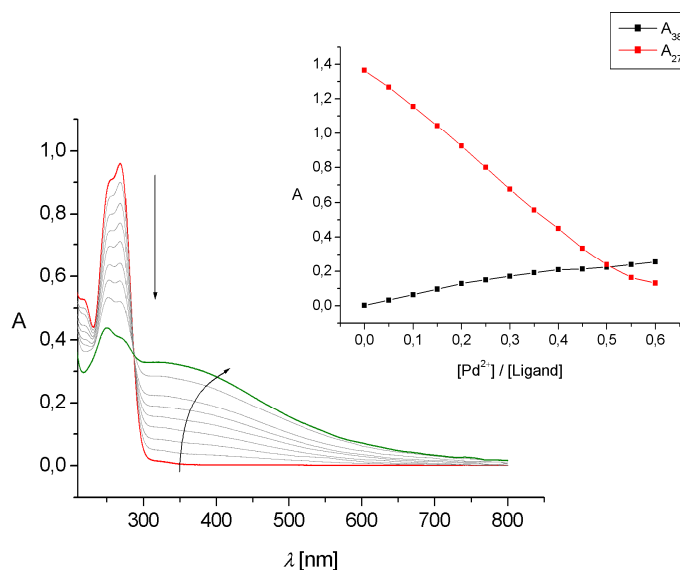


Fig. 4: UV/Vis titration of **63** with Pd²⁺ ions in steps of 0.1 eq. Inset: Plotting of the absorptions at 270 nm and 385 nm against eq Pd²⁺.

Similar results were obtained in case of Au³⁺-ions. In addition, the corresponding DTC complex [Au(DTC)₂]⁺ was found in the ESI-MS spectrum. As a result, the ligand-like nucleoside **58** can be used for the complexation of different metal ions including Pd²⁺. The ability to use different metals ions enables the formation of different binding geometries when **58** is used.

The synthesis of phosphoramidite **63** (Fig. 3) enabled the incorporation of the MDTC moiety into oligonucleotides *via* automated solid phase DNA synthesis. This represents the first example of the modification of DNA strands with an artificial nucleoside bearing two sulfur atoms. However, under the DNA synthesis conditions that were used, the formation of two byproducts was found. The first byproduct may be an iminothioether (product **A**), the second an *S*-methyl thiocarbamate (product **B**) as shown in Fig.5. For analysis, different modified strands were purified by HPLC and characterized using MALDI-TOF mass spectrometry and enzymatic digestion.

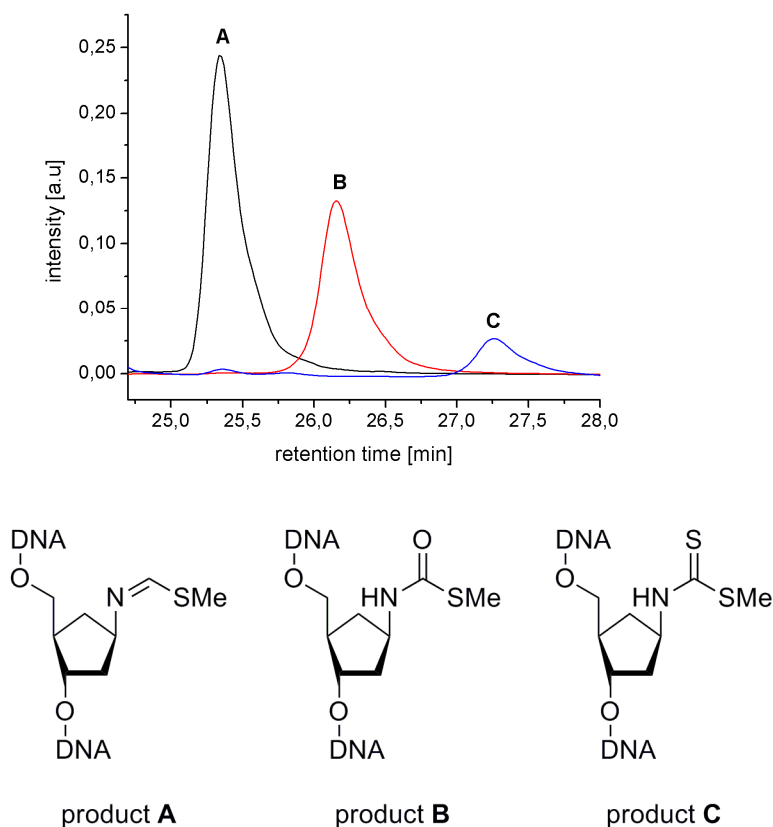


Fig. 5: Combined HPLC Chromatograms of the purified three obtained products after automated DNA solid phase synthesis using phosphoramidite **63** and proposed structures.

A controlled nucleophilic substitution of the SCH_3 -moiety of compound **58** with a NH_2 -moiety using aqueous NH_3 led to the formation of a carbocyclic thiourea (TH) derivative **83**, which is also suitable for the coordination of soft metal ions (*Fig. 3*). The complexation behavior of **83** was investigated and UV/Vis titrations in water showed that in the presence of Ag^+ ions (*Fig. 6*) a 2:1 complex of the type $[\text{Ag}(\text{TH})_2]^+$ is formed, as expected. It was possible to detect this metal complex with ESI-MS. UV/Vis titrations in water were also performed using Pd^{2+} ions and Au^{3+} ions but the formation of the expected 4:1 complex $[\text{Pd}(\text{TH})_4]^{2+}$ and of the 2:1 complex $[\text{Au}(\text{TH})_2]^+$ was not detected. The metal complexes $[\text{Pd}(\text{TH})_4]^{2+}$ and $[\text{Au}(\text{TH})_2]^+$ were therefore synthesized and both compounds were found in the ESI-MS spectra.

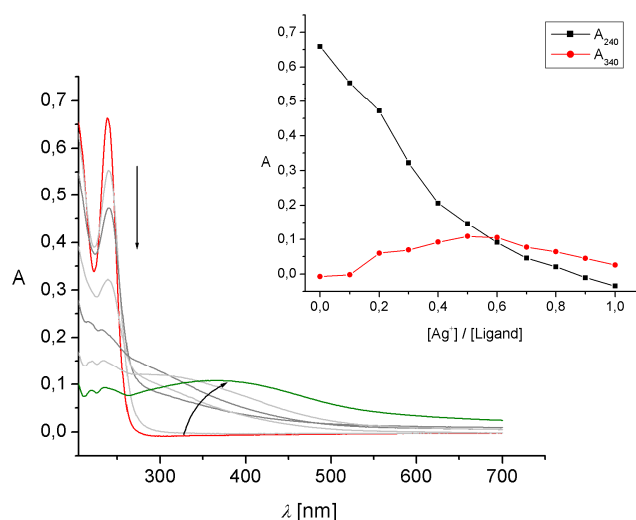


Fig. 6: UV/Vis titration of **83** with Ag^+ ions in steps of 0.1 eq. Inset: Plotting of the absorptions at 240 nm and 340 nm against eq Ag^+ .

As previously mentioned, methods for the selective modification of proteins are highly desirable. As a goal of this work, it was aimed to introduce the carbonyl-moiety into YFP (*yellow fluorescent protein*) as this would in principle enable further reactions, e.g. oxime formation. In this context, two different possibilities were investigated and therefore two different molecules (**Fig. 7**) were synthesized.

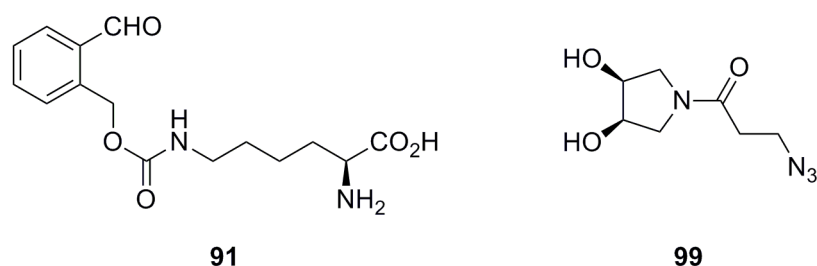


Fig. 7: Synthesized molecules for the selective modification of YFP.

The modified *L*-lysine derivative **91** could successfully be incorporated into YFP *via* the *amber suppressor* technique. Under the tested conditions it was found however, that the efficiency of the incorporation was not high enough to perform further experiments. This was concluded from measurements using a fluorescence microscope (**Fig. 8**).

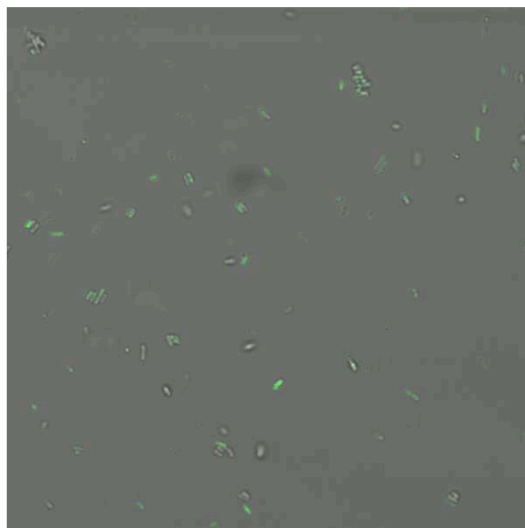


Fig. 8: Fluorescence microscope measurement after incorporation of **91** in YFP.

It was also tested whether the postsynthetic functionalization of YFP is possible. For this purpose diol **99**, which can be converted into a dialdehyde using periodate, was synthesized and attached to alkyne modified YFP *via* Cu^I catalyzed Click chemistry. Although the synthesis of **99** was possible, initial Click experiments led only to precipitation of the protein.

1. Einleitung

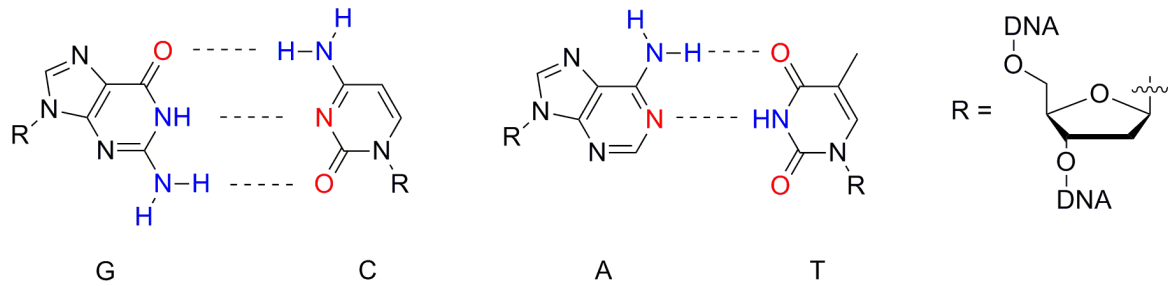
1.1. Nukleinsäuren

Mit der Entdeckung der DNA durch *Miescher*¹ im Jahr 1869, der diese Substanz als „Nuclein“ bezeichnete, begann eine Erfolgsgeschichte, die bis heute seinesgleichen sucht. Nachdem *Kossl*² einige Jahre später die Nukleobasen isolieren konnte, aus denen DNA zusammengesetzt ist, dauerte es jedoch weitere 50 Jahre bis *Levene*³ die Annahme postulierte, DNA setze sich aus Nukleotid-Einheiten zusammen, die über Phosphatgruppen verknüpft sind. Er ging allerdings davon aus, dass es sich dabei um kurze Ketten handelte, in denen festgelegte und sich stets wiederholende Abfolgen der Nukleobasen vorliegen. *Astbury*⁴ konnte in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts die damals noch junge Technik der Röntgenstrukturanalyse heranziehen, um damit erste aber nicht endgültige strukturelle Eigenschaften der DNA ermitteln. Auch die Funktion der DNA konnte bis dato nicht geklärt werden und es dauerte bis 1944, ehe *Avery*, *MacLeod* und *McCarty*⁵ ihre essentielle genetische Funktion beweisen konnten. *Watson* und *Crick*⁶ konnten, aufbauend auf Röntgenstrukturdaten von *Franklin*, *Gosling* und *Wilkins*⁷, in bahnbrechenden Arbeiten anfang der 1950er Jahre schließlich die Doppelstrangstruktur der DNA ermitteln. Neben der nach ihren Entdeckern benannten Basenpaarung über Wasserstoffbrückenbindungen (*Abb. 9*) wird die Struktur maßgeblich durch π - π -Wechselwirkungen der Nukleobasen stabilisiert. Einen wesentlichen Beitrag hinsichtlich der Struktur konnte auch *Chargaff*⁸ leisten, indem er erkannte, dass in der DNA stets ebensoviele Purine wie Pyrimidine vorhanden sind. Dies ist heute eine der wichtigen *Chargaff*-Regeln.

In den folgenden Jahren wurde nicht nur die strukturelle Vielfalt der DNA, die unter verschiedenen Bedingungen unterschiedliche Konformationen ausbildet (*Abb. 9*) entdeckt, sondern auch die Molekularbiologie begründet. Auch viele Jahrzehnte nach der Entdeckung der Doppelstrangstruktur und fast eineinhalb Jahrhunderte nach *Mieschers* Arbeiten, ist das Forschungsgebiet DNA noch lange nicht erschöpft. Anhand aktueller Ergebnisse ist beispielsweise davon auszugehen, dass neben den vier Standardbasen Adenin (A), Guanin (G), Cytosin (C) und Thymin (T) auch verschiedene Derivate von C in epigenetischer Hinsicht eine fundamentale Bedeutung besitzen. Es handelt sich dabei um oxidierte Produkte (hmC, fC und caC) von methyliertem Cytosin (mC).⁹ Obwohl DNA eine fundamentale Rolle in der Entwicklung des Lebens spielt, handelt es sich dabei längst nicht nur mehr um einen reinen

Speicher der genetischen Information. Im 21. Jahrhundert wird sie als chemische Verbindung betrachtet, die z.B. in der Katalyse oder zur Stereokontrolle chemischer Reaktionen eingesetzt werden kann.

a)



b)

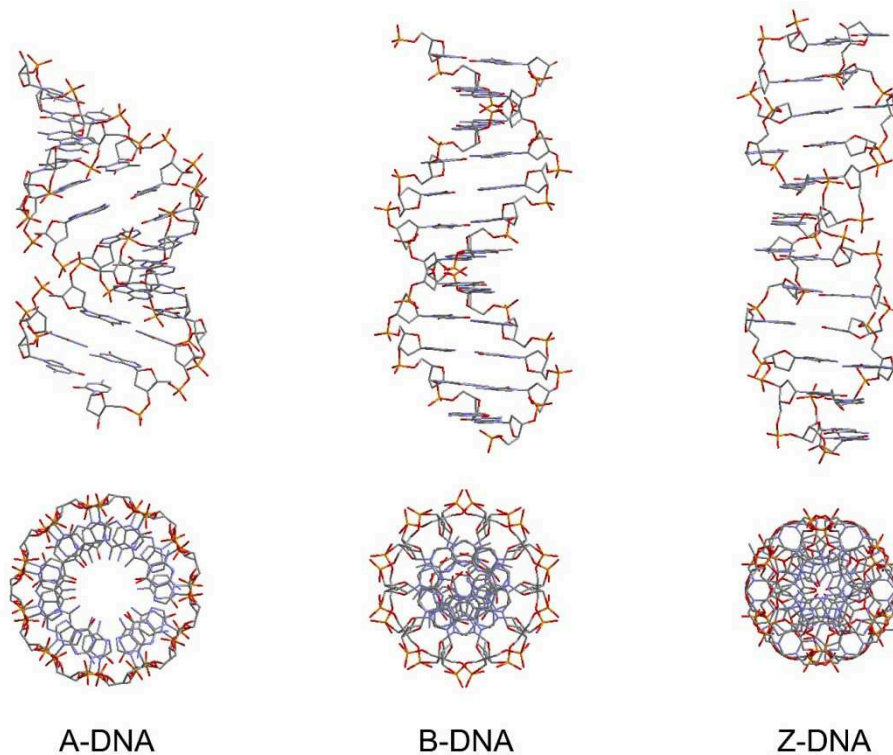


Abb. 9: a) Wasserstoffbrücken (als Striche angedeutet) in den Watson-Crick-Basenpaaren. Farblich hervorgehoben sind die jeweiligen H-Brücken-Akzeptoren (rot) bzw. -Donoren (blau); b) Strukturen der DNA-Doppelhelices A-DNA, B-DNA und Z-DNA.

1.2 DNA und Metalle

1.2.1 Bedeutung von Metallen in der Nukleinsäurechemie

Metalle spielen eine fundamentale Rolle in der Nukleinsäurechemie¹⁰, insbesondere in der Ausbildung sowie Stabilisierung verschiedener struktureller Anordnungen von Oligonukleotiden. Im Rahmen dieser Arbeit kann nur der Einfluss verschiedener Metallionen sowie Metallkomplexe auf DNA kurz erläutert werden. Neben den in *Abb. 9* gezeigten Duplexstrukturen (A-DNA, B-DNA und Z-DNA) ist die Ausbildung von Triplex- sowie Quadruplexstrukturen möglich. Im ersten Fall werden zur Stabilisierung Mg^{2+} -Ionen benötigt. Es zeigte sich aber, dass dazu auch *trans*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ geeignet ist.¹¹ Na^+ - oder K^+ -Ionen stabilisieren Guanin-Quadruplexstrukturen.¹² Als Ergebnis intensiver Studien, die u.a. in Zusammenhang mit therapeutischen Anwendungsmöglichkeiten¹³ solcher Strukturen steht, stellte sich heraus, dass es zur Ausbildung verschiedener Topologien kommen kann. Hierbei üben neben den eingesetzten Kationen jedoch weitere Faktoren, wie z.B. eingesetzte Sequenzen oder Konzentrationen der Oligonukleotide einen starken Einfluss aus.¹⁰

Metallionen können durch den Austausch von H-Atomen in DNA-Duplexstrukturen koordiniert werden, wie Studien von *Alexandre*¹⁴, *Lee*¹⁵ und *Lippert*¹⁶ zeigten. Auf diese Weise ist sogenannte M-DNA (Metall-DNA) zugänglich, die im Gegensatz zu B-DNA metallische Leitfähigkeit aufweisen könnte und somit potentielle Anwendung in der Materialwissenschaft finden könnte.¹⁷ Die Koordination von Metallionen an die natürlichen Nukleobasen kann auch zur Stabilisierung energetisch ungünstiger und damit selten auftretender Tautomere führen.¹⁸ Diese Nukleoside haben veränderte Eigenschaften hinsichtlich ihres Verhaltens als Wasserstoffbrücken-Donoren bzw. -Akzeptoren und ermöglichen dementsprechend veränderte Basenpaarungen.

In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass die strukturelle Vielfalt der Biologie und ihre herausragende Fähigkeit zur Selbstorganisation zum Vorbild für die Nanotechnologie geworden ist. Die daraus entstandene Bionanotechnologie verwendet das selbstorganisierende System DNA, um beispielsweise definierte Strukturen künstlich herzustellen.¹⁹ Die Kombination aus natürlichen oder modifizierten Basen mit Metallen kann die Strukturvielfalt der DNA zusätzlich erhöhen und es kann funktionalisierte DNA mit geänderten Eigenschaften erhalten werden. Nicht zuletzt aufgrund der gewählten Metalle sind unterschiedliche Anwendungs-

möglichkeiten denkbar. Hierbei kann es sich um Materialien mit besonderen elektronischen²⁰ oder magnetischen Eigenschaften²¹ aber auch um Substanzen mit therapeutischer sowie katalytischer Wirksamkeit handeln.

Nanostrukturen auf DNA-Basis können auch erhalten werden, indem beispielsweise Metallionen im Inneren der Doppelhelix aber auch ausserhalb selbiger koordiniert werden. Sie können auch am DNA-Rückgrat (*Backbone*) eingeführt werden. Die Realisierung dieser Fälle ist auf mehreren Wegen möglich, wie in den folgenden Abschnitten ausführlicher gezeigt wird. Neben diesen genannten Varianten gezielter Modifizierung von Oligonukleotiden wird ferner die gegenwärtige Bedeutung von DNA in der Katalyse erläutert.

1.2.2 Das Konzept der Metall-Basenpaare

Ersetzt man die *Watson-Crick*-Basenpaare im Innern der Doppelhelix durch Metall-Ligand-Wechselwirkungen, so erhält man so genannte Metall-Basenpaare²², in denen zwei Einzelstränge u.a. mittels koordinativer Bindungen verknüpft werden (*Abb. 10*).

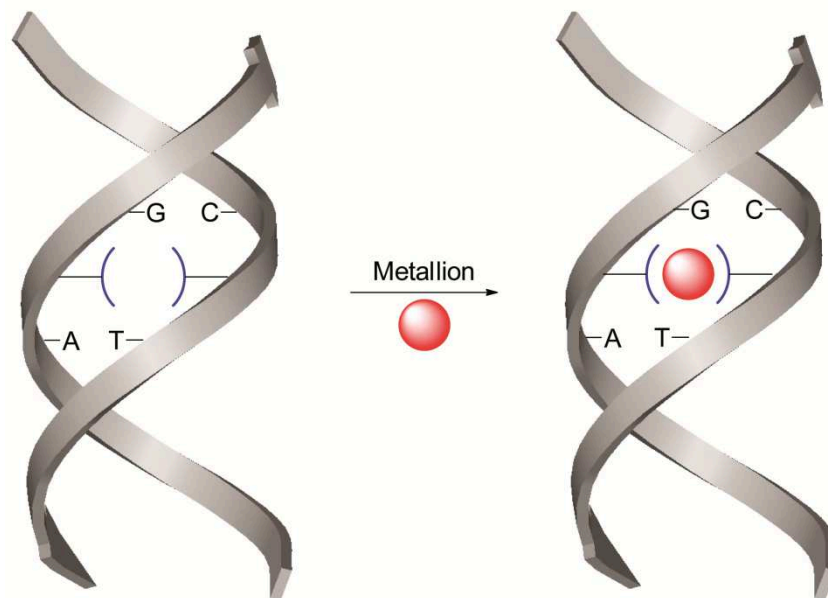


Abb. 10: Schematische Darstellung der Bildung von Metall-Basenpaaren.

Für die Ausbildung von Metall-Basenpaaren sind nicht unbedingt künstliche Nukleobasen erforderlich. Sie wurden bereits auf Basis der natürlich vorkommenden Nukleobasen dC und

dT realisiert, an die bevorzugt Hg^{2+} - und Ag^+ -Ionen koordinieren.²³ Die entsprechenden Metall-Basenpaare dT– Hg^{2+} –dT **1** sowie dC– Ag^+ –dC **2** sind in Abb. 11 gezeigt. Katz²⁴ entdeckte **1** vor knapp 50 Jahren, die Struktur konnte von *Kuklenyik* und *Marzilli* bestätigt werden.²⁵ Zumindest **1** zeigt sehr interessante Eigenschaften, etwa im Bereich Ladungstransport in DNA.²⁶ Da beide Metall-Basenpaare sehr ausführlich untersucht worden sind, wird für weitere Informationen auf die Literatur verwiesen.²⁷

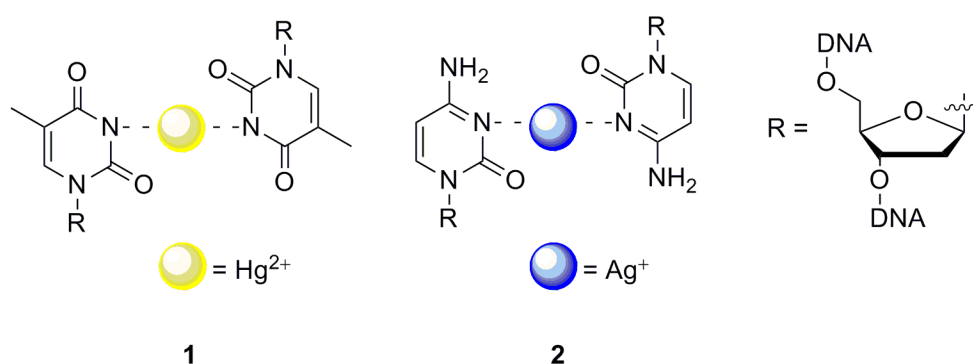


Abb. 11: Strukturen der Metall Basenpaare **1** und **2** auf Basis natürlich vorkommender Pyrimidinbasen dC und dT.²³

*Urata*²⁸ veröffentlichte unlängst, dass Ag^+ -Ionen auch bei Verwendung eines dT–dC Basenpaares koordiniert wurden und zu einer geringen Erhöhung der Duplex-Stabilität führten. Ähnliche Studien von *Ono* kamen zu gleichen Ergebnissen.²⁹

Um das Konzept der Metall-Basenpaare zu erweitern, wurden auch zahlreiche künstliche ligandenähnliche Nukleoside synthetisiert, die erstmalig von *Tor*³⁰ als „Ligandoside“ bezeichnet wurden. In Abb. 12 ist eine Übersicht einiger modifizierter Nukleobasen, die ein 2'-Desoxyribose-Rückgrat besitzen, gezeigt.

Bei der Entwicklung solcher künstlichen Nukleoside sind wichtige Aspekte zu berücksichtigen. So ist von großer Bedeutung, dass sie mit der DNA-Synthesechemie kompatibel sind und in wässrigen Medien eingesetzt werden können. Das komplexierende Basenpaar sollte zudem eine höhere Affinität zu den Metallionen besitzen als die natürliche DNA und schließlich sollten die Metall-Basenpaare eine ähnliche Größe wie die *Watson-Crick*-Basenpaare aufweisen, damit die Bildung einer stabilen Doppelhelix gewährleistet ist.

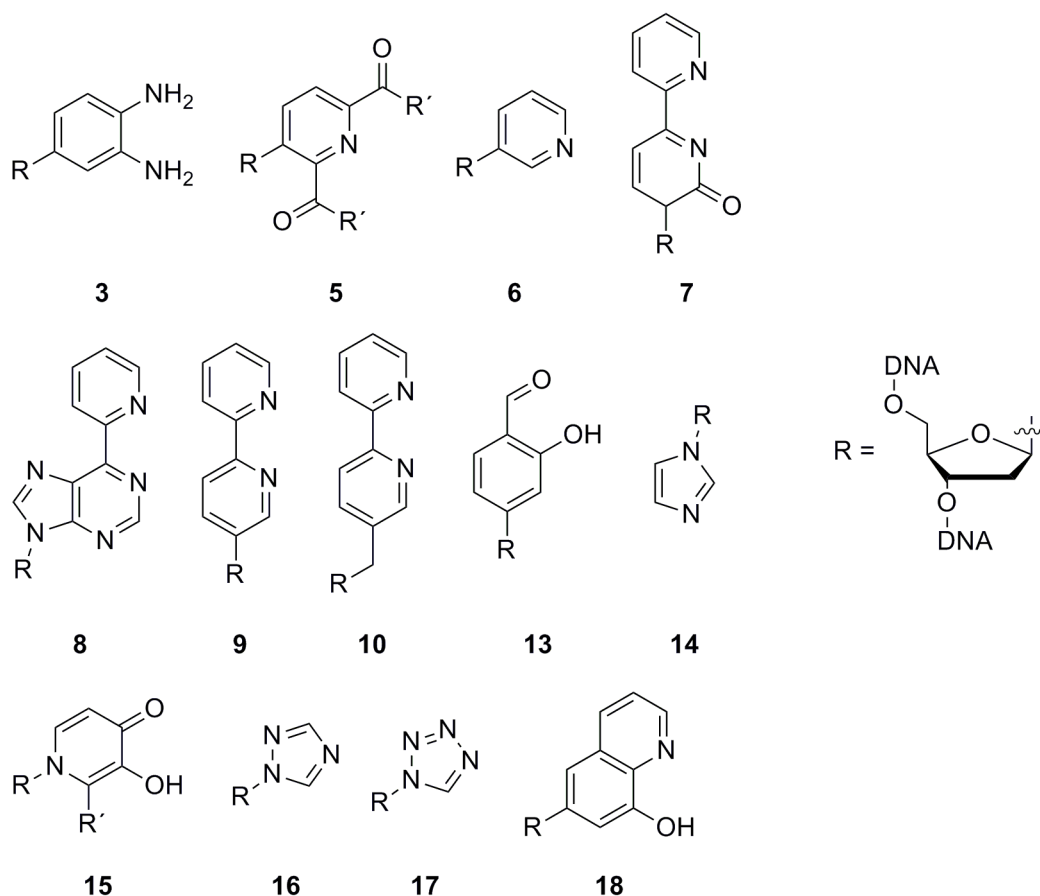


Abb. 12: Ausgewählte Beispiele künstliche Nucleobasen auf Basis der 2'-Desoxyribose zur Koordination verschiedener Metallionen in DNA.

Tanaka und Shionoya³¹ synthetisierten einen *o*-Phenylendiamin-Liganden **3** (Abb. 12), mit dem Pd²⁺-Ionen komplexiert werden konnten, wodurch die erstmalige potentielle Möglichkeit zur Bildung von Metall-Basenpaaren aufgezeigt werden konnte. Allerdings wurde dieses künstliche Nukleosid, wie auch weitere Derivate, die synthetisiert wurden, nicht in Oligonukleotide eingebaut.

Schultz³² erreichte dagegen die erfolgreiche Bildung eines Metall-Basenpaares **4**, das in Abb. 13 gezeigt ist. Es handelte sich dabei um eine Kombination aus dem Pyridin-2,6-di-carboxylat (Dipic)-Liganden **5** und einem Pyridin-Nukleosid **6**, wodurch eine [3+1]- Koordination ermöglicht wurde. Der Chelateffekt des dreizähligen Liganden Dipic hat entscheidend dazu beigetragen, dass der Doppelstrang nach Zugabe von Cu²⁺ deutlich stabilisiert wurde. In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, dass Cu²⁺ das am häufigsten eingesetzte Metallion in Bezug auf Metall-Basenpaare ist, nicht zuletzt deshalb, weil Cu²⁺ von allen Übergangs-

metallen der zweiten Reihe die höchste Komplexbildungskonstante besitzt. Andere Metallionen, beispielsweise Fe^{2+} , Co^{2+} oder Ni^{2+} konnten zwar koordiniert werden, führten jedoch zu keiner Stabilisierung. Im Gegensatz dazu war die Verwendung von Pt^{2+} - und Pd^{2+} -Ionen aufgrund ihrer zu großen Ionenradien nicht möglich. Durch geringe strukturelle Veränderungen wurde ein Derivat von **4** erhalten ($\text{R}' = \text{NH}^-$), mit dem nach Zugabe von Cu^{2+} noch größere Stabilisierungen erreicht wurden, wohingegen das Derivat **4** mit $\text{R}' = \text{NCH}_3^-$ keine stabilen Metall-Basenpaare lieferte. Die erste Kristallstruktur eines Metall-Basenpaares in einem DNA-Doppelstrang, die durch Verwendung des strukturell veränderten Dipic-Py Metall-Basenpaares **4** ($\text{R}' = \text{O}^-$) erhalten werden konnte, stammt ebenfalls von *Schultz*.³³

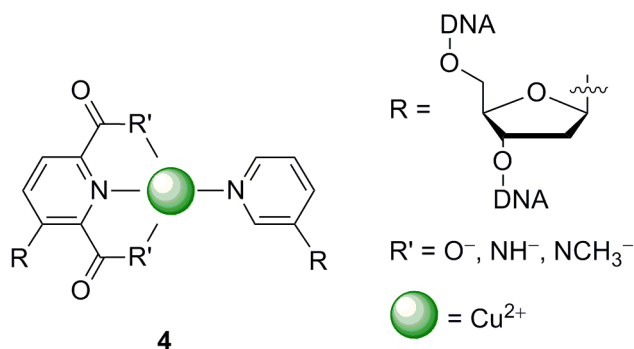


Abb. 13: Metall-Basenpaar **4** mit [3+1]-quadratisch-planarer Geometrie von *Schultz*.³²

Switzer^{34, 35} entwickelte zwei Liganden die von dC und dA abgeleitet wurden. Es handelte sich dabei um 4-(2'-Pyrimidyl)-pyrimidinon (Pyr^{p}) **7** und 6-(2'-Pyridyl)-purin (Pur^{p}) **8** (Abb. 12). Die in den Positionen 1 und 4 vorhandenen lewisbasischen Stickstoffatome ermöglichten die Koordinierung verschiedener Metallionen, u.a. Ni^{2+} . Dies führte unter Ausbildung einer quadratisch-planaren Geometrie zur größten Stabilisierung. *Tor*²⁵ wählte aufgrund seiner hohen Stabilität und Affinität zu vielen Metallionen einen 2,2'-Bipyridin-Liganden **9**, um damit Cu^{2+} zu koordinieren, wodurch eine signifikante Stabilisierung der Doppelstrangstruktur erreicht werden konnte. Strukturelle Ähnlichkeiten weisen die genannten Ligandoside **7** und **8** von *Switzer* sowie **10** von *Leumann*³⁶ auf. Allerdings wurde im letzteren Fall eine Destabilisierung der Duplexstruktur nach Zugabe beobachtet, wohingegen ohne Zugabe von Metallionen eine Stabilisierung auftrat.

In der Arbeitsgruppe *Shionoya*³⁷ wurde das Pyridin-Nukleosid **6** (Abb. 12) gewählt, um verschiedene Metallionen zu koordinieren. Die besten Ergebnisse in Bezug auf Stabilisierung

wurden durch Komplexierung von Ag^+ -Ionen erhalten. Der gewählte Ligand erlaubte ferner neben der Bildung von Doppelstrangstrukturen auch die Bildung von Dreifachhelices.

Müller³⁸ entwickelte ein Metall-Basenpaar **11**, das sich aus zwei verschiedenen Nukleobasen zusammensetzte. Es handelte sich einerseits um dT und andererseits um das künstliche 1-Des-azaadenin.³⁹ Dadurch wurde erreicht, dass neben Wasserstoffbrücken auch eine koordinative Bindung – nach Umsetzung mit Ag^+ -Ionen – zu einer Erhöhung der Stabilität des Systems beitrug. (Abb. 14).

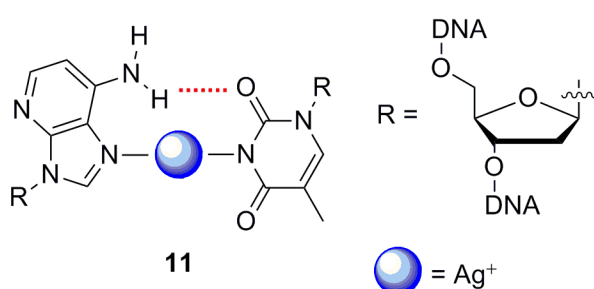


Abb. 14: Strukturvorschlag eines von Müller entwickelten Basenpaares **11**, das zusätzlich durch Wasserstoffbrücken (rot) vermittelt wird.³⁸

Carell⁴⁰ wählte ein Metall-Basenpaar **12**, das auf dem Salicylaldehyd-Liganden **13** beruht. Dieses weist die Besonderheit auf, dass neben der Zugabe von Metallionen auch die Zugabe von Ethylendiamin nötig ist, um einen *crosslink* zu erhalten (Abb. 15). Nach Zugabe von Ethylendiamin und Cu^{2+} konnte die bislang höchste Stabilisierung der Duplexstruktur unter Verwendung von Metall-Basenpaaren erreicht werden. Es wurde festgestellt, dass sogar bei einem nicht komplementären Einbau der Salicylaldehyd-Liganden in die DNA das Salen-Metall-Basenpaar **12** nach Zugabe von Ethylendiamin und Metallsalz ausgebildet wird, selbst wenn dazu ein bereits bestehendes dA–dT Basenpaar aufgebrochen werden muss.⁴¹

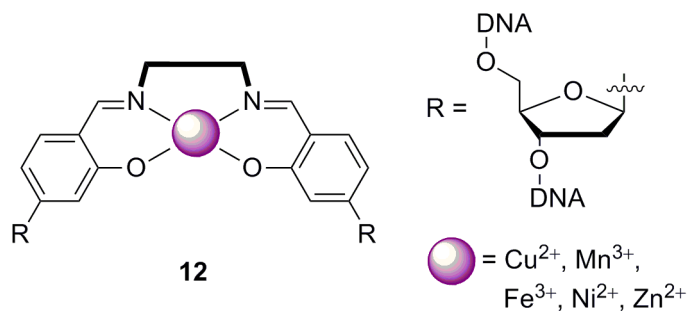


Abb. 15: Salen-Metall-Basenpaar von Carell.⁴⁰

Durch den Einbau mehrerer zur Komplexierung geeigneter Basenpaare kann prinzipiell eine Stapelung der so koordinierten Ionen erreichen werden, wodurch nach deren Reduktion möglicherweise ein leitfähiges System erhalten werden könnte. Man würde dann von quasi-ein-dimensionalen Leitern sprechen, da die Stromleitung überwiegend entlang der Stapelachse erfolgen würde. Von großer Bedeutung ist dabei, dass die Metallkomplexe im Doppelstrang ausreichend kinetisch labil sind, da nur dann sichergestellt wird, dass zunächst gebildete kinetische Intermediate aufgebrochen werden können. Nur durch diese Flexibilität kann dann letztendlich die geeignete Doppelstrangstruktur gebildet werden. Bislang konnten mehrere Arbeitsgruppen durch Verwendung verschiedener Liganden Metallionen in DNA stapeln.

Ono⁴² griff zur Stapelung von Metallionen auf das dT–Hg²⁺–dT- Basenpaar **1** zurück, um damit die Stapelung von drei Hg²⁺-Ionen zu verwirklichen (Abb. 16a). Müller⁴³ gelang ebenfalls die Stapelung von drei Metallionen, wobei es sich hier um Ag⁺-Ionen handelte, die unter Verwendung des Imidazol-Liganden **14** (Abb. 12) koordiniert wurden. Durchgeführte NMR-Studien und daraus erhaltene ¹J (¹⁵N, ^{107/109}Ag)-Kopplungen bewiesen die Bildung der Metall-Basenpaare. Shionoya⁴⁴ inkorporierte fünf aufeinanderfolgende Hydroxypyridon-Liganden **15** und stapelte damit fünf Cu²⁺-Ionen (Abb. 16b). Neben der ferromagnetischen Kopplung des Gesamtsystems von 5/2 bestätigten ESI-MS-Experimente die intermolekulare Komplexbildung. Die vielseitige Verwendbarkeit des Hydroxypyridon-Liganden **15** zeigte sich auch in der Stapelung von bis zu vier Fe³⁺-Ionen (Abb. 16c), die ebenfalls in der Arbeitsgruppe Shionoya⁴⁵ durchgeführt wurde. Es kam dabei zur Ausbildung von Triplex-Strukturen, die u.a. mittels CD-Spektroskopie nachgewiesen wurde.

In der Arbeitsgruppe Carell⁴⁶ konnten zehn Mn³⁺-Ionen bzw. Cu²⁺-Ionen unter Verwendung des Liganden **13** in Kombination mit Ethylendiamin gestapelt werden (Abb. 16d). Da bei der

Stapelung von derart vielen Metallionen die Problematik der nicht kontrollierbaren Verschiebung der Einzelstrangsequenzen (*frameshift*) auftreten kann, wurden zu dessen Unterbindung zunächst Stränge mit bis zu zehn Liganden synthetisiert, die dann mit den komplementären Strängen hybridisiert wurden. Nach der Zugabe eines Überschusses Ethylendiamin sowie Mn^{2+} bzw. Cu^{2+} wurden die Metall-Basenpaare gebildet. Die Komplexbildung wurde zusätzlich erleichtert, in dem an jedem Ende der Doppelhelix fünf *Watson-Crick*-Basenpaare (dC–dG) eingesetzt wurden.

Neben der Stapelung von Metallionen gelang es auch, verschiedene Metallionen in einer Doppelstrangstruktur gezielt zu koordinieren. *Shionoya* und *Carell*⁴⁷ wählten dazu Cu^{2+} - und Hg^{2+} -Ionen. *Shionoya* griff für die Komplexierung von Cu^{2+} -Ionen auf den bewährten Hydroxypyridon-Liganden **15** und für die Komplexierung der Hg^{2+} -Ionen auf den Pyridin-Liganden **6** zurück (Abb. 16e). Im Gegensatz dazu wählte *Carell* den Liganden **13**, um Cu^{2+} -Ionen sowie das dT–dT-Basenpaar **1**, um Hg^{2+} -Ionen zu koordinieren. Nach Inkorporation beider Nukleoside konnte nach deren Hybridisierung eine stabile Doppelstrangstruktur erhalten werden, die leere Koordinationsstellen aufwies und in welche die Metallionen komplexiert werden konnten.

Dieses kontrollierte Stapeln und Mischen verschiedener Metallionen innerhalb des Doppelstrangs kann einerseits als künstlicher genetischer Code aufgefasst werden, andererseits können sich daraus weitere Anwendungsmöglichkeiten ergeben. Denkbar sind beispielsweise so genannte *molekulare Magnete* oder *Einzelmolekülmagnete* (*singlemolecule magnets*). Diese besitzen enormes Potential als zukünftige Datenspeicher oder molekulare Schalter.⁴⁸

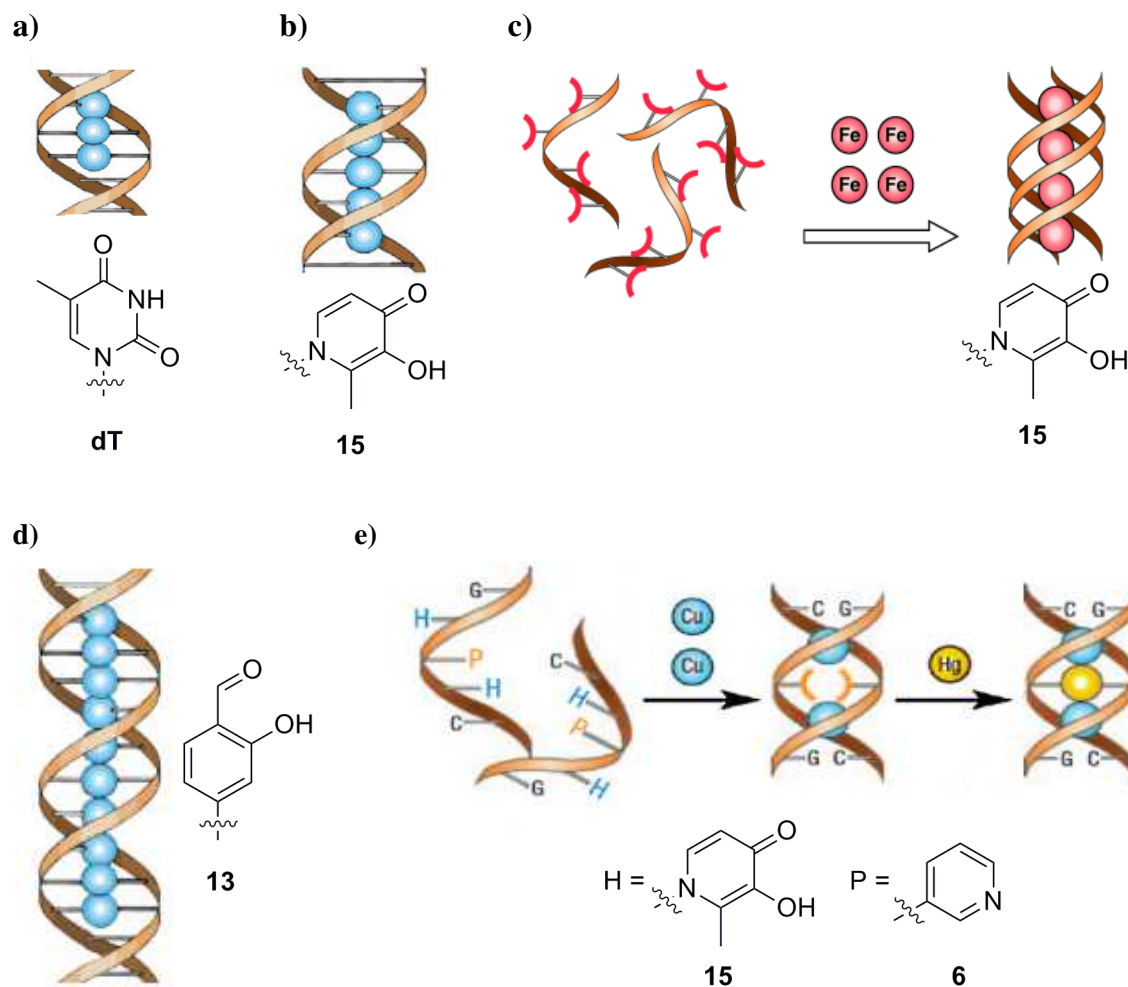


Abb. 16: Beispiele für die Stapelung von Metallionen in DNA.

Seit kurzem werden Metall-Basenpaare auch zur Realisierung von Logikgattern eingesetzt, die für die Entwicklung etwa von Nanocomputern von essentieller Bedeutung sein könnte. Nachdem es *Urata*⁴⁹ gelang, das dT–Hg²⁺–dT Basenpaar **1** enzymatisch in DNA einzubauen konnte *Park*⁵⁰ auf diesen Ergebnissen aufbauend zeigen, dass an dT–dT- und dC–dC-fehlgepaarten Primern in Gegenwart von Hg²⁺- oder Ag⁺-Ionen eine sogenannte „illusionäre“ Polymeraseaktivität ausgelöst wird, die für logische Operatoren verwendet werden kann. Das System von *Park* ist jedoch dahingegen beschränkt, dass die Basenpaare nicht enzymatisch eingebaut werden, sondern nur bis zum jeweiligen Metall-Basenpaar verlängert werden. In der Arbeitsgruppe *Carell*⁵¹ konnte hingegen nicht nur das Triphosphat des Salicylaldehyds enzymatisch in DNA eingebaut werden, es gelang sogar, nach Zugabe von Cu²⁺ und Ethylen-diamin das Metall-Basenpaar **12** zu inkorporieren und mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) zu amplifizieren. Zudem konnten drei Kristallstrukturen von der Polymerase Bst Pol I

im Komplex mit modifizierter DNA erhalten werden. Röntgenstrukturen von Metall-Basenpaaren wurden bislang nur von *Schultz*³³ und *Meggers*⁵² publiziert.

Neben Metall-Basenpaaren, die ein 2'-Desoxyribose-Rückgrat aufweisen, wurden davon abweichend auch solche entwickelt, die auf GNA (*Glycol Nucleic Acid*) und PNA (*Peptide Nucleic Acid*) basieren (Abb. 17).

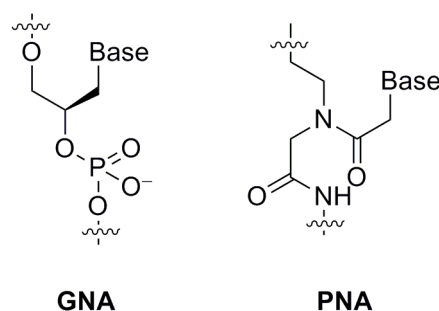


Abb. 17: Schematische Darstellung Strukturen von GNA und PNA.

Metall-Basenpaare auf GNA-Basis wurden von *Meggers*⁵³ entwickelt. Unter Verwendung der bereits erwähnten Liganden Hydroxypyridon **15** und 6-(2'-Pyridyl)-purin (Pur^p) **8** gelang die Koordinierung verschiedener Metallionen, wie z.B. Cu²⁺, Ag⁺, Ni²⁺ oder Co²⁺. Die höchsten Stabilisierungen der GNA-Duplexstrukturen wurden mit Cu²⁺ (Ligand **15**) und Ni²⁺ (Ligand **8**) erreicht. Eine Kombination dieser beider Liganden führte nach Koordination von Cu²⁺ zum bislang stabilsten Basenpaar in GNA.⁵⁴ Ein aus DNA und GNA bestehendes Metall-Basenpaar wurde kürzlich von *Müller*⁵⁵ publiziert. Dazu wurde neben verschiedenen Azol-Liganden (**14**, **16** und **17**, Abb. 12) der Dipic-Ligand **5** auf GNA-Basis gewählt. Die Koordination von Ag⁺ und Au³⁺ führte zu geringfügigen Stabilisierungen, wohingegen Cu²⁺, Hg²⁺, Ni²⁺ und Mn²⁺ praktisch keinen Einfluss ausübten. Mit Fe²⁺, Zn²⁺ und Cr³⁺ wurden hingegen geringfügige Destabilisierungen der jeweiligen Metall-Basenpaare beobachtet.

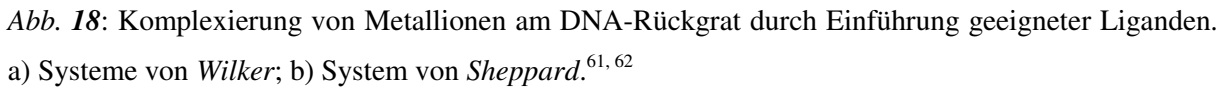
Metallionen wurden auch in modifizierte PNA-Duplexstrukturen inkorporiert. *Achim* benutzte dazu den 2,2'-Bipyridin-Liganden **9**, um Ni²⁺ zu koordinieren⁵⁶ sowie einen 8-Hydroxyquinolin-Liganden **18**, mit dem Cu²⁺-Ionen komplexiert werden konnten.⁵⁷

1.2.3 Backbone-Metallisierung

Metallionen können nicht nur über die Nukleobasen, sondern auch über das Rückgrat (*Backbone*) eingeführt werden. Hierbei wird die DNA gewissermaßen von Metallen umhüllt. *Braun*⁵⁸ konnte Ag^+ -Ionen mittels Ionenaustausch gegen Na^+ einführen und anschließend zu elementarem Silber reduzieren, womit die DNA ummantelt wurde. Die Zugabe weiterer Ag^+ -Ionen und erneuter Reduktion führte zur Bildung agglomerierter Silbercluster, wodurch eine vollständige Bedeckung erreicht wurde. Die Reduktion von Ag^+ -Ionen ist auch unter Verwendung der *Tollens*-Reaktion möglich. *Keren*⁵⁹ führte die dazu notwendige Aldehydfunktion in Form von Glutaraldehyd in DNA ein, wobei dies jedoch unkontrolliert erfolgte. Im Gegensatz dazu verlief die von *Carell*⁶⁰ mittels Click Chemie durchgeführte Einführung von Aldehydfunktionen selektiv, so dass nach *Tollens*-Reaktion und Entwicklung eine selektive Metallisierung nur der modifizierten DNA erreicht werden konnte.

Die Einführung von Metallionen an das DNA-Rückgrat kann auch mittels geeigneter Liganden am Rückgrat erfolgen, wie schematisch anhand zweier Beispiele in *Abb. 18* gezeigt ist. *Wilker*⁶¹ führte verschiedene Chelatliganden in das DNA-Rückgrat ein, um damit verschiedene Metallionen zu koordinieren (*Abb. 18a*). Es handelte sich dabei z.B. um ein 2,2'-Bipyridin-Derivat, mit dem u.a. Cu^{2+} koordiniert wurde sowie einen Dithioether, mit dem u.a. Pt^{2+} -Ionen koordiniert wurden. Die modifizierten Stränge wurden mit einem dC *mis-match* hybridisiert, um Schmelzexperimente durchzuführen. Diese zeigten, dass es durch die Einführung der Liganden zu einer Destabilisierung der Duplexstruktur kommt. Nach Zugabe verschiedener Metallionen konnten jedoch etwas höhere Schmelztemperaturen ermittelt werden. *Sheppard*⁶² publizierte eine templatgestützte Synthese eines Metall-Salen-Komplexes auf DNA-Basis (*Abb. 18b*).

Neben diesen Beispielen existieren zahlreiche weitere Systeme, mit denen Metallionen an Oligonukleotide koordiniert wurden. In diesem Zusammenhang wird auf einen ausführlichen Übersichtsartikel von *Sleiman*⁶³ verwiesen.



Anhand der in *Abb. 12* gezeigten künstlichen Nukleobasen, die bislang zur Koordinierung verschiedener Metallionen benutzt wurden, ist ersichtlich, dass es sich überwiegend um *N*-haltige Liganden handelt. Zur Einführung weicher Metallionen, beispielsweise Pd^{2+} -Ionen, werden weiche Liganden benötigt. Dazu wären schwefelhaltige Nukleoside besonders geeignet. Bislang sind in der Literatur lediglich zwei Beispiele zur Koordinierung von Metallionen an schwefelhaltige Liganden beschrieben, wobei es sich jedoch nicht um Pd^{2+} , sondern um Ag^+ handelte. Die erhaltenen Metall-Basenpaare sind in *Abb. 19* gezeigt.

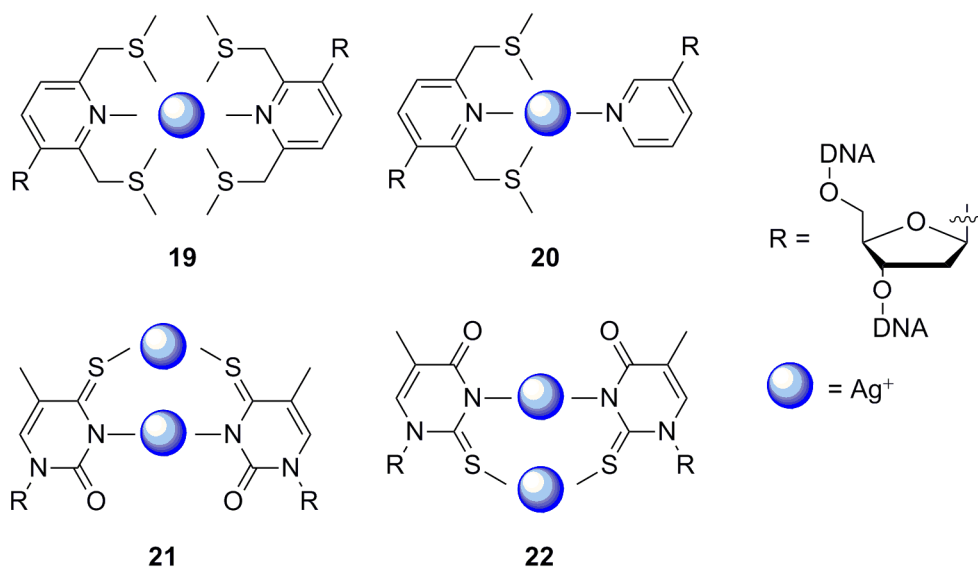


Abb. 19: Strukturen verschiedener schwefelhaltiger Metall-Basenpaare.^{29, 64}

Bei den Metall-Basenpaaren **19** und **20** handelte es sich um von Pyridin abgeleitete Thioether-Derivate, die von *Schultz*⁶⁴ entwickelt wurden. Die Metall-Basenpaare **21** und **22**, die von *Ono*²⁹ eingesetzt wurden, enthielten 2-ThiodT (2SdT)- bzw. 4-ThiodT (4SdT)-Liganden. Aktuelle Ergebnisse zeigten deutliche Stabilisierungen von 2SdT- als auch 4SdT-enthaltenden Oligonukleotiden, sowohl mit Ag^+ - als auch mit Hg^{2+} -Ionen. Bei Verwendung von 2eq Ag^+ waren die erzielten Stabilisierungen am höchsten. Zudem konnten 2:1 Komplexe von Ag^+ mittels ESI-MS nachgewiesen werden.²⁹

*Iranzo et al.*⁶⁵ synthetisierten u.a. 4SdT- enthaltende Dinukleotide sowie Hairpin-Strukturen und führten damit Komplexierungsstudien mit Cu^{2+} - und Cd^{2+} -Ionen durch. Letztere ermöglichen die Durchführung von ^{113}Cd -NMR-Experimenten. Es stellte sich heraus, dass 4SdT in Gegenwart von Cu^{2+} zum entsprechenden Disulfid oxidierte, während in Gegenwart von Cd^{2+} 1:1 Komplexe gebildet wurden. Die Koordination von Cd^{2+} an 4SdT gelang auch bei der Hairpin-Struktur, führte jedoch zu einer signifikanten Destabilisierung.

In der Arbeitsgruppe *Shionoya*⁶⁶ wurden **23** und **24**, zwei in Abb. 20 gezeigte schwefelhaltige Derivate des Hydroxypyridon-Liganden **15** entwickelt. Mit diesen wurde eine Koordination von Pd^{2+} und Pt^{2+} unter Bildung der entsprechenden Metallkomplexe erreicht. Diese konnten zwar charakterisiert aber nicht in DNA eingeführt werden.

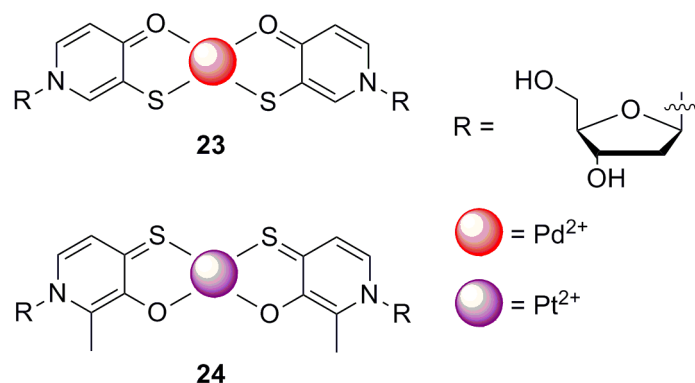


Abb. 20: Schwefelhaltige Nukleobasen zur Koordinierung weicher Metallionen.⁶⁶

Schwefelhaltige Nukleobasen wurden nicht nur zur Koordinierung weicher Metallionen eingesetzt. *Hatano*⁶⁷ führte thiolmodifizierte Nukleobasen in DNA ein, um redoxaktive Basenpaarung zu erhalten. *Sekine*⁶⁸ untersuchte die Fähigkeit von 2SdT, Triplex-Strukturen auszubilden und *Kool*⁶⁹ zeigte, dass die Substitution von dT durch 2SdT und 4SdT deutliche Auswirkungen auf das Verhalten solcher Oligonukleotide hinsichtlich Hybridisierung und Replikation hat.

Obgleich in der Literatur, wie eben dargelegt, nur wenige schwefelhaltige Nukleobasen beschrieben wurden, ist festzuhalten, dass es sich hierbei um ein Forschungsgebiet handelt, das entwicklungsfähig ist. Dies gilt zum Beispiel für deren Einbau in Oligonukleotide mittels automatisierter DNA-Festphasensynthese, was oftmals zu Problemen führt, wie in Abschnitt 3.3.5.1.1 ausführlicher gezeigt wird.

1.2.5 DNA in der Katalyse

Die stereoselektive Organokatalyse hat eine wichtige Stellung sowohl in der organischen Synthesechemie als auch in der Industrie eingenommen.⁷⁰ Neben ständigen Bestrebungen, Katalysen noch effizienter durchzuführen und in größeren Anwendungsbereichen einzusetzen, werden zusätzliche Aspekte wie Kostenentwicklung und Umweltverträglichkeit (*green chemistry*)⁷¹ vermehrt berücksichtigt. Aus den genannten Gründen hat die Biokatalyse eine zunehmend bedeutende Rolle eingenommen. Wegweisende Arbeiten stammen von *Rolfes* und *Feringa*⁷², die aus einer Kombination des Biomakromoleküls DNA und einem Metallkomplex-Katalysator so genannte Hybridkatalysatoren darstellten (Abb. 21). Mit diesen wurde

die Chiralität der DNA durch den katalytisch wirksamen Metallkomplex auf die zu katalysierende Reaktion übertragen.

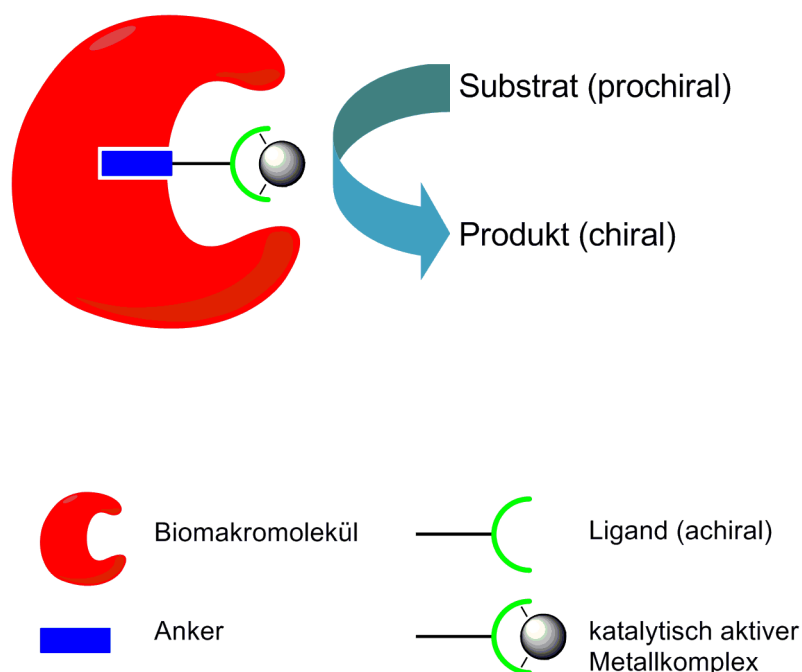


Abb. 21: Hybridkatalysator aus einem Metallkomplex und einem Biomakromolekül.⁷²

Rolfes und Feringa führten mit einem solchen Hybridkatalysator, dessen Funktionsprinzip auf der Verwendung von katalytisch wirksamen Cu^{2+} -Ionen beruht, *Michael*-Additionen⁷³, *Diels-Alder*-Reaktionen⁷⁴, *syn*-Hydrationen von Enonen⁷⁵ sowie *Friedel-Crafts*-Alkylierungen⁷⁶ durch. Shibata⁷⁷ katalysierte Fluorinierungen. Die Verwendung eines organometallischen DNA-Hybridkatalysators wurde erstmals von Jäschke⁷⁸ beschrieben. Dazu wurden DNA 19mere postsynthetisch mit Dien-Gruppen funktionalisiert, um damit allylische Aminierungen in Gegenwart von Ir^{I} durchzuführen.

In der Arbeitsgruppe Carell konnte kürzlich ein DNA-Hybridkatalysator auf Basis des Salen-Liganden mittels Click Chemie synthetisiert werden⁷⁹, wodurch eine interessante Alternative auf diesem Gebiet geschaffen wurde. Es ist ferner anzumerken, dass es für katalytisch wirksame DNA nicht zwingend Metallionen bedarf. So konnte beispielsweise Marx⁸⁰ *Aldol*-Reaktionen mit prolinmodifizierter DNA katalysieren und Wang und Li⁸¹ benutzten gänzlich unmodifizierte DNA, um *Henry*-Reaktionen zu katalysieren.

1.3 Komplexchemie von σ -Donor-Liganden

1.3.1 N-Heterozyklische Carbene (NHC)

Unter Carbenen werden neutrale, zweiwertige, hoch reaktive Kohlenstoff-Zwischenstufen verstanden, in denen ein C-Atom zwei nichtbindende Elektronen besitzt und die nach ihrer elektronischen Anordnung zwischen *Singulett*-Carbenen und *Triplett*-Carbenen unterschieden werden.⁸² Mit der Erkenntnis, dass sterische und/oder elektronische Effekte stabilisierend wirken, gelang die erstmalige Isolierung eines kristallinen Carbens durch *Arduengo*.⁸³ Es handelte sich dabei um ein so genanntes N-Heterozyklisches Carben (NHC), die sich im Allgemeinen von Imidazol, Pyrazol oder 1,2,4-Triazol ableiten. *Wanzlick*⁸⁴ befasste sich ausführlicher mit den Eigenschaften gesättigter und ungesättigter NHC und postulierte, dass die 6π -Elektronen-Delokalisierung zur Stabilität der Carbene beiträgt. Im Gegensatz dazu zeigten jedoch theoretische Studien⁸⁵, dass die Stabilität der NHC überwiegend aus einer σ -Ladungsdonierung resultiert und π -Rückbindungsanteile von geringerer Bedeutung sind.

NHC wirken als Lewis-Basen und können – nicht nur mit Übergangsmetallen – stabile Addukte eingehen. Prinzipiell existieren verschiedene Wege, um NHC-Metallkomplexe zu erhalten, die in der Zwischenzeit eine herausragende Bedeutung in der Katalyse eingenommen haben.⁸⁶ Da bezüglich dieser Aspekte nicht näher ins Detail gegangen werden kann, wird auf diverse Übersichtsartikel von *Herrmann*⁸⁷ verwiesen.

Hervorgehoben wird hingegen die mittlerweile gängige Methode, um NHC-Metallkomplexe zu erhalten, nämlich durch Umsetzung der als Vorstufen dienenden entsprechenden Imidazoliumsalze oder Thiazoliumsalze mit basischen Silbersalzen durch sogenannte *in situ* Deprotonierung (*Abb. 22*). Hierbei wird insbesondere Ag_2O ⁸⁸ verwendet, aber auch AgOAc ⁸⁹ sowie Ag_2CO_3 ⁹⁰ wurden erfolgreich eingesetzt. Auf diese Art sind Silber-NHC-Komplexe zugänglich, die aufgrund von Silber-Silber-Wechselwirkungen und in Abhängigkeit der N-gebundenen Substituenten sowie der eingesetzten negativ geladenen Gegenionen eine breite strukturelle Vielfalt besitzen, wie Ergebnisse vieler Arbeitsgruppen⁹¹ zeigen. Im Übrigen wird auf sehr ausführliche Abhandlungen mit weiteren Informationen zu dem sehr umfangreichen Forschungsgebiet von NHC-Komplexverbindungen des Silbers verwiesen, die von *Lin*⁹² und

Youngs⁹³ verfasst wurden. Ebenfalls möglich ist die Verwendung von Cu_2O ⁹⁴, wodurch kupferhaltige NHC-Komplexe erhalten werden.⁹⁵

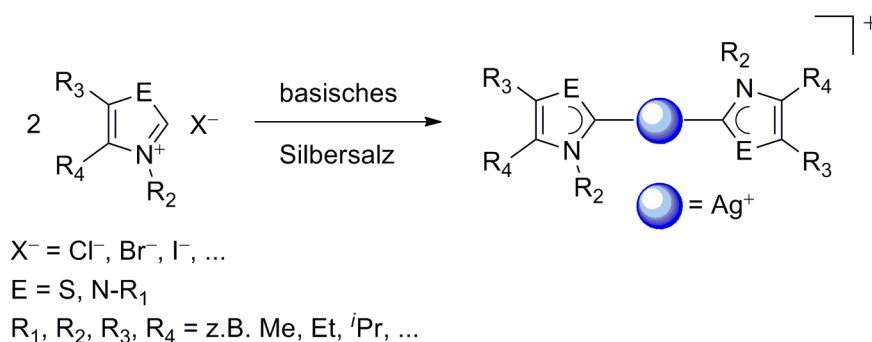


Abb. 22: Vereinfachte schematische Darstellung der Bildung von Silber-NHC-Komplexen durch *in situ* Deprotonierung.

Da Silber-NHC-Komplexe labil sind, stellen sie potentielle Vorstufen anderer Metallkomplexe dar. So besteht die Möglichkeit, durch Transmetallierung beispielsweise mit Pd^{2+} die entsprechenden Palladium-NHC-Komplexe zu erhalten.⁹⁶ Auch Umsetzungen mit Au^+ , Ir^+ und Rh^+ konnten erfolgreich durchgeführt werden.^{97, 98}

In aller Regel erfolgt die Synthese von Silber-NHC-Komplexen sowie etwaige Transmetallierungen in unpolaren Lösemitteln, insbesondere in CH_2Cl_2 . Es sind auch Beispiele zu finden, in denen z. B. Methanol, Acetonitril oder DMSO, eingesetzt wurden.^{92, 93} Darüber hinaus wurde vereinzelt von Synthesen silberhaltiger NHC-Komplexverbindungen berichtet, die in Wasser durchgeführt werden konnten.^{95, 99} Dies stellt insbesondere für die Bildung von Metall-Basenpaaren ein notwendiges Kriterium dar.

NHC sind auch in der Natur präsent und haben in der Biochemie eine wichtige Bedeutung. Als Beispiel kann Thiamin **25** (Abb. 23) angeführt werden, welches ein Cofaktor verschiedener Enzyme ist. In Form des Diphosphats (TDP) katalysiert es eine Vielzahl an Reaktionen, u.a. die Decarboxylierung von Pyruvat zum aktivierten Aldehyd. Es gilt als gesichert, dass die aktive Katalysatorspezies in basischer Pufferlösung das entsprechende 2,3-Dihydrothiazol-2-yliden¹⁰⁰ ist, wie von Breslow¹⁰¹ vorgeschlagen wurde.

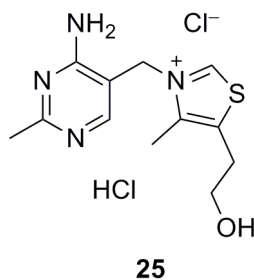


Abb. 23: Struktur von Thiamin **25**.

Daneben sind auch Reaktionen beschrieben worden, in denen Thiamin oder davon abgeleitete Thiazoliumsalze unter enzymfreien Bedingungen zur Katalyse herangezogen wurden. Dabei handelte es sich insbesondere um *Stetter*-Reaktionen, wie u.a. *Suzuki*¹⁰² und *Scheidt*¹⁰³ zeigen konnten. Von *Pohl*¹⁰⁴ sowie *Kluger* und *Tittmann*¹⁰⁵ stammen ausführliche Übersichtsartikel, auf die für detailliertere Informationen verwiesen wird.

1.3.2 Thiocarbonylverbindungen

Schwefel ist bezüglich seiner Komplexchemie sehr vielfältig. So sind in der Literatur neben Verbindungen von Thiolaten oder Thioethern auch Thiocarbamate, Dithiocarbamate, schwefelgebundene Ester der Dithiocarbamate sowie Thioharnstoffe beschrieben, um nur einige Beispiele zu nennen. Abb. 24 zeigt die Strukturen der drei letztgenannten Verbindungsklassen, bei denen es sich allesamt um Thiocarbonylverbindungen handelt.



$R_1, R_2, R_3 = \text{z.B. H, Me, Ph, ...}$

Abb. 24: Strukturen von Thiocarbonylverbindungen zur Koordinierung von weichen Metallionen.

Da diese nicht nur am Besten untersucht und beschrieben wurden, sondern insbesondere für die Koordinierung weicher Metallionen wie Pd^{2+} geeignet sind, wird im Folgenden zunächst

auf Dithiocarbamate **26** sowie deren Ester **27** näher eingegangen. Die Verbindungsklasse der Thioharnstoffe **28** wird im Anschluss erläutert.

1.3.2.1 Salze der Dithiocarbaminsäure und deren Ester

Als Dithiocarbamate **26** (*Abb. 24*) bezeichnet man die Salze der Dithiocarbaminsäure. Im Gegensatz zur freien Säure zeichnen sie sich durch ihre chemische Beständigkeit sowie ihre Möglichkeit, mit verschiedensten Metallionen stabile Komplexverbindungen einzugehen, aus. Ihre Darstellung erfolgt vorwiegend durch Umsetzung zuvor deprotonierter Amine mit CS_2 .¹⁰⁷ Schon seit längerer Zeit sind sie Gegenstand intensiver praktischer und theoretischer Forschungen nicht nur von Chemikern, sondern auch von Physikern und Biologen.¹⁰⁶ Zu erwähnen ist, dass sich Dithiocarbamate (DTC) gerade in jüngerer Zeit als sehr vielversprechende Liganden für Komplexverbindungen mit antiproliferativen Eigenschaften erwiesen haben, von großer Bedeutung sind hierbei Au^{3+} -Komplexe.¹⁰⁷

Die Darstellung der Ester **27** kann in Analogie zur Synthese von DTC erfolgen, wobei im Anschluss zusätzlich eine Alkylierung erfolgt, die z.B. durch Umsetzung mit geeigneten Alkylhalogeniden erreicht werden kann.¹⁰⁸ Ferner kann auf thiocarbonylübertragende Reagenzien¹⁰⁹ zurückgegriffen werden, mit dem Vorteil, dass auf die Handhabung sehr toxischer Reagenzien wie CS_2 und Alkylhalogenide verzichtet werden kann. Obwohl die Ester der Dithiocarbaminsäure leicht zugänglich sind und nur eine geringe strukturelle Abweichung zu DTC aufweisen, ist diese Verbindungsklasse hinsichtlich ihres Koordinationsverhaltens auch nicht im Ansatz so umfangreich untersucht und beschrieben worden, wie es DTC sind. Hier sind besonders die Arbeitsgruppen *Mattes*¹¹⁰ und *Faraglia*¹¹¹ zu nennen, die ausführliche Untersuchungen zum Koordinationsverhalten gegenüber Cu^{2+} und Ni^{2+} und insbesondere gegenüber Pd^{2+} , Pt^{2+} , Au^{3+} und Au^+ durchführten. Es sind darüberhinaus auch Publikationen von *Fregona*¹¹², *Sathyanarayana*¹¹³ und *Agarwala*¹¹⁴ erschienen, die viele weitere Metallionen wie z. B. Hg^{2+} , Ag^+ oder Rh^{3+} koordinierten. Festgehalten werden kann, dass verschiedene Bindungsmodi realisiert wurden und zwar sowohl in Abhängigkeit der eingesetzten Stöchiometrien als auch in der Wahl der verschiedenen Metallionen sowie der eingesetzten Lösemittel. Mit Hilfe insbesondere von IR- und NMR-Spektroskopie wurde beispielsweise eine einfache Koordination von Pd^{2+} sowie Pt^{2+} nur über die Thiocarbonylgruppe in 1:1 Spezies beobachtet. Es konnten auch 1:2 Spezies (Metall-Ligand) mit *trans*-Geometrie,

verbrückte Komplexverbindungen sowie Komplexe mit höheren Stöchiometrien charakterisiert werden. Die Vielfältigkeit der Dithioester zeigte sich ferner darin, dass nach Zugabe von Pd^{2+} , Pt^{2+} und Au^{3+} in Lösung Dealkylierungen auftraten, woraus entsprechende Dithiocarbamate resultieren, die wiederum als Chelate wirken können. In Gegenwart von Pt^{2+} konnten jedoch lediglich Demethylierungen beobachtet werden, Deethylierungen traten bei Raumtemperatur nicht auf. Zudem war dieser Vorgang sehr langsam und keineswegs vollständig, so dass Produktgemische vorlagen. Wie bereits erwähnt konnten Demethylierungen auch in Gegenwart von Au^{3+} beobachtet werden, Reduktionen zu Au^+ fanden hingegen nicht statt. Au^+ -Komplexe konnten durch vorangegangene Reduktion von Au^{3+} erhalten werden. Wie erwartet wurde Au^+ (d^{10} - Konfiguration) linear über beide Thiocarbonyl-Schwefelatome gebunden.

Ester der Dithiocarbaminsäure sind nicht nur als Liganden geeignet, sie spielen auch eine wichtige Rolle bei Metabolisierungsprozessen¹¹⁵ und weisen zudem therapeutisch wichtige Eigenschaften, u.a. antibakterielle Aktivität¹¹⁶ oder antiproliferative Eigenschaften sowohl der freien Liganden¹¹⁷ als auch der entsprechenden Pd^{2+} - sowie Pt^{2+} -Komplexverbindungen¹¹⁸ auf. Neuerdings werden in diesem Zusammenhang auch Ru^{3+} -Verbindungen eingesetzt.¹¹⁹ Ferner besitzen sie interessante konformative Eigenschaften, auf die im Abschnitt 3.3.3.1 ausführlicher eingegangen wird.

1.3.2.2 Thioharnstoffe

Die Verbindungsklasse der Thioharnstoffe **28** (Abb. 24) ist prinzipiell auf mehreren Wegen synthetisch zugänglich. Häufig werden sie aus Isothiocyanaten durch Umsetzung mit entsprechenden Aminen erhalten.¹²⁰ Als weitere Möglichkeit hat sich aber auch die Umsetzung von Estern der Dithiocarbaminsäure mit Aminen in einer nukleophilen Substitution etabliert.¹²¹ Komplexverbindungen der Thioharnstoffe sind wie auch die der DTC sehr ausführlich untersucht worden.¹²² Sie spielen in der Katalyse – im Gegensatz zu den freien Liganden¹²³ – eine eher untergeordnete Rolle.

Generell werden bei den Komplexverbindungen mehrere Geometrien realisiert, die von der Wahl der eingesetzten Metallionen abhängt. Durch Verwendung von Metallionen mit d^{10} -Konfiguration (Ag^+ , Au^+) werden linear gebundene 1:2 Spezies (Metall:Ligand) erhalten¹²⁴,

während die Verwendung von d^8 -konfigurierten Metallionen (z. B. Pd^{2+}) in der Regel zu 1:4 (Metall:Ligand) Spezies – auch bei Verwendung von 1:2 Stöchiometrien – führt.¹²⁵ Bei der Verwendung von Au^{3+} hingegen kommt es nicht zu Bildung dieser tetrakisartigen Geometrie, sondern zur Reduktion zu Au^+ unter Ausbildung linearer 1:2 Komplexe.¹²⁶ Auch bei Cu^{2+} findet eine Reduktion statt, wobei Cu^+ -Komplexe gebildet werden.¹²⁷ Des Weiteren wurden zahlreiche höhere Stöchiometrien gefunden, in denen teilweise schwefelverbrückte Dreizentren-Bindungen auftraten.¹²⁸ Das vielseitige Verhalten der Thioharnstoffe als Komplexliganden, wird schließlich durch die Möglichkeit, als *N*, *S*-Chelatliganden zu fungieren, komplettiert.¹²⁹

Koordinationsverbindungen von Thioharnstoffen werden heutzutage oftmals im Bereich der Lasertechnologie sowie der optischen Datenspeicherung eingesetzt, was auf ihre hervorragenden nicht-linear optischen Eigenschaften (NLO) zurückzuführen ist. Hierbei kommen insbesondere Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} und Zn^{2+} zum Einsatz.¹³⁰

Nach dieser kurzen Übersicht sowohl von NHC Liganden als auch diverser anderer schwefelhaltiger Liganden kann als Schlussfolgerung festgehalten werden, dass alle Liganden zur Koordinierung weicher Metallionen, insbesondere von Pd^{2+} geeignet sind, wobei es zur Ausbildung verschiedener Geometrien kommen kann. Darüberhinaus ermöglichen die genannten Liganden die Koordinierung praktisch aller Übergangsmetallionen.

2. Aufgabenstellung

Durch die Koordination von Metallionen innerhalb eines DNA-Doppelstrangs können Nanostrukturen mit definierten Eigenschaften erhalten werden. Dabei kann es sich um elektrische Leitfähigkeit oder Magnetismus handeln, denkbar sind aber auch katalytische Funktion oder optische Eigenschaften. Neben der Koordination verschiedener Metallionen über natürlich vorkommende Basen ist kann diese auch über künstliche ligandenähnliche Nukleoside („Ligandoside“) erfolgen, von denen gegenwärtig zahlreiche Beispiele bekannt sind. Das Konzept der Metall-Basenpaare kann durch Verwendung künstlicher Nukleobasen mit σ -Donoreigenschaften erweitert werden. Dies ermöglicht die Koordination von Metallionen mit σ -Akzeptoreigenschaften, beispielsweise Pd^{2+} -Ionen. Besonders geeignete Liganden sind in diesem Zusammenhang *N*-Heterozyklische Carbene (NHC) und schwefelhaltige Liganden, zum Beispiel Dithiocarbamate (DTC), deren Ester (MDTC) sowie Thioharnstoffe (TH) (Abb. 25).

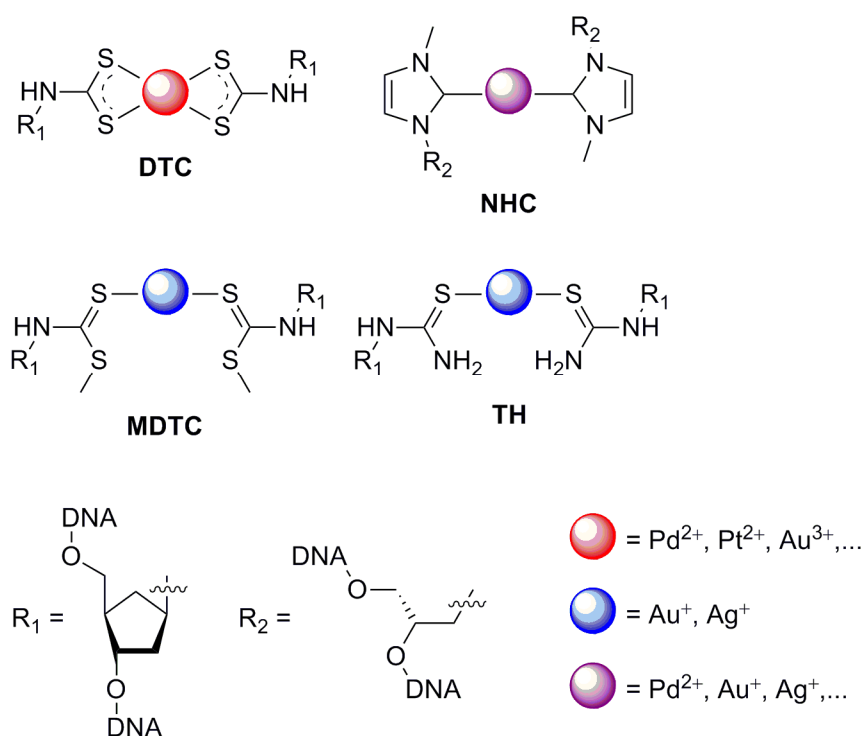


Abb. 25: Metall-Basenpaare, die auf Nukleobasen mit σ -Donor-Eigenschaften basieren.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten daher solche Ligandoside mit σ -Donoreigenschaften entwickelt und in Oligonukleotide inkorporiert werden. Neben der Synthese der entsprechenden

Phosphoramidite sollte auch das Koordinationsverhalten der verschiedenen Verbindungen in Wasser näher untersucht werden.

Theoretisch ist die Bildung von DTC modifizierter DNA auch auf postsynthetischem Weg möglich und folglich sollten so entsprechende Metall-DTC-Basenpaare zugänglich sein. Die Realisierung solcher Metall-DTC-Basenpaare sollte zusätzlich untersucht werden.

Durch Kombination von DNA, dem Beispiel für Chiralität schlechthin, und kleiner, katalytisch aktiver Moleküle sind prinzipiell Hybridkatalysatoren zugänglich, mit denen asymmetrische Katalysen effizient durchgeführt werden können. Da Metall-NHC-Komplexe eine Schlüsselrolle in der Katalyse eingenommen haben, scheint die Verwendung dieser Verbindungen sehr vielversprechend. *Via Click Chemie* sollten daher Oligonukleotide mit verschiedenen Azoliums Salzen modifiziert werden. Diese stellen gängige Vorstufen von Metall-NHC-Komplexen dar, die ebenfalls dargestellt werden sollten.

Thiamin ist ein in der Natur vorkommendes Thiazoliums Salz, das aufgrund seiner katalytischen Eigenschaften eine interessante Erweiterung des Konzepts der DNA-Hybridkatalysatoren darstellt. Es sollte daher eine Synthese von azidmodifiziertem Thiamin ausgearbeitet und ferner untersucht werden, ob entsprechende Modifizierungen von DNA möglich sind.

Die Modifizierung von Proteinen stellt neben der Modifizierung von Oligonukleotiden ein an Bedeutung stetig zunehmendes Forschungsgebiet dar. Modifizierte Proteine können zur Aufklärung biologischer Prozesse beitragen aber auch Anwendungen in diagnostischen Bereichen oder industriellen Bereichen, etwa als Katalysatoren, finden. Mit der Einführung der Carbonylfunktion in Proteine können aufgrund der vielfältigen Chemie selbiger weitere Modifizierungen vorgenommen und somit Fortschritte in der Proteinchemie erzielt werden. Im Rahmen dieser Arbeit sollte daher die Einführung von Carbonylgruppen in YFP (*yellow fluorescent protein*) erreicht werden. Dies ist sowohl durch den Einbau geeigneter künstlicher Aminosäuren, beispielsweise mittels *Amber Suppressor* Technik, als auch *via Click Chemie* möglich. Je Methode sollte eine geeignete Verbindung synthetisiert werden. Ferner sollten Experimente zum Einbau durchgeführt werden.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Entwicklung eines Metall-NHC-Basenpaares

3.1.1 Design eines Imidazolium-Ligandosids

Zur Realisierung eines Metall-NHC-Basenpaares wurde ein Imidazoliumsalz benötigt, das in die DNA-Doppelhelix inkorporiert werden musste. Im Anschluss sollte es in Gegenwart basischer Silbersalze deprotoniert und komplexiert werden. In vorangegangenen Studien¹³¹ hatte sich gezeigt, dass die Verwendung eines C-Nukleosids der 2'-Desoxyribose **29** für diesen Zweck ungeeignet ist, da sich dessen Synthese und insbesondere die Trennung beider Anomere als sehr kompliziert erwiesen hatte. Aus diesem Grund wurde ein Imidazolium-Derivat **30** mit azyklischem Rückgrat gewählt (*Abb. 26*), das sich durch eine stark vereinfachte Synthese herstellen lässt. Diese daraus resultierenden Glycerol Nukleotide (GNA) wurden bereits zur Ausbildung von Metall-Basenpaaren eingesetzt.

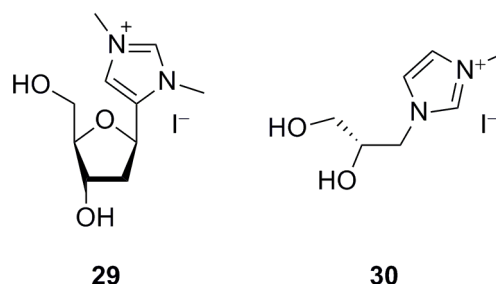


Abb. 26: Vorstufe eines imidazoliummodifizierten C-Nukleosids der 2'-Desoxyribose (links) sowie eines N-Nukleosids mit azyklischem Rückgrat (rechts) für die automatisierte DNA-Festphasensynthese. Aufgrund nicht trennbarer Anomere der Verbindung **29** wurde die Vorstufe **30** eingesetzt.

3.1.1.1 Synthese des Phosphoramidits **31** für die DNA-Festphasensynthese

Die Synthese des imidazoliummodifizierten Phosphoramidits **31**, das für die DNA-Festphasensynthese benötigt wurde, ist in *Abb. 27* gezeigt. Das azyklische Rückgrat der Verbindung erlaubte eine stark vereinfachte, lediglich aus vier Schritten bestehende Synthese.

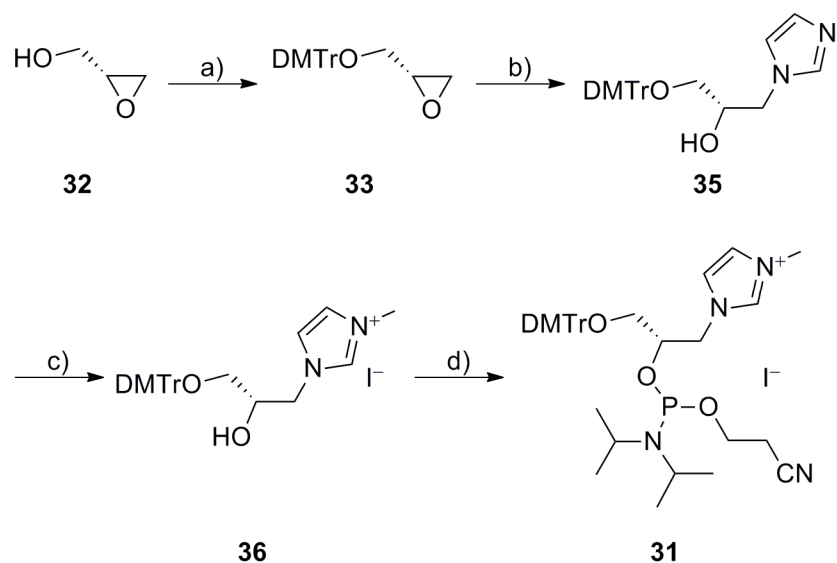


Abb. 27: Schematische Darstellung der Synthese des Phosphoramidits **31**. Reaktionsbedingungen: a) NEt₃, DMTrCl, CH₂Cl₂, RT, 21 h, 86%; b) Imidazol **34**, NaH, DMF, RT, 2 h, dann **33**, RF, 18 h, 67%; c) CH₃I, CH₃CN, RT, 17 h, 93%; d) Hünig-Base, CEDCl, CH₂Cl₂, RT, 45 min, 54%.

Der erste Schritt der Synthese war die literaturbekannte 4,4'-Dimethoxytritylierung des primären Alkohols von kommerziell erhältlichem (*R*)-(+)-Glycidol **32**. Es hat sich – wie in der Literatur⁵³ beschrieben – in diesem Zusammenhang bestätigt, dass zur Synthese glycolhaltiger Nukleotide eine vorangegangene Dimethoxytritylierung des Epoxids von Vorteil ist, da Aufreinigungen aufgrund erhöhter hydrophobizität deutlich vereinfacht werden. Anschließende Öffnung des geschützten Epoxids **33** mit Imidazol **34** sowie katalytischer Mengen NaH lieferte das Imidazol-Derivat **35**. Die *N*-Methylierung zu **36** konnte mit 10fachem Überschuss an CH₃I in Acetonitril in sehr guten Ausbeuten durchgeführt werden. Nicht reagiertes CH₃I wurde im Anschluss im N₂-Strom über Nacht vertrieben. Im letzten Schritt wurde schließlich durch Reaktion mit Hünig-Base und CEDCl das Phosphoramidit **31** synthetisiert, das durch Ausfällen einer konzentrierten EtOAc-Lösung mit Isohexan in sehr reiner Form, jedoch nur in moderaten Ausbeuten erhalten wurde.

In Abb. 28 ist das ³¹P-NMR der Verbindung **31** in CDCl₃ gezeigt, in dem ausschließlich die typischen Phosphoramidit-Signale im Bereich um 150 ppm auftraten. Signale einer oxidierten P^V-Verbindung wurden auch nach mehreren Tagen im NMR-Rohr nicht detektiert.

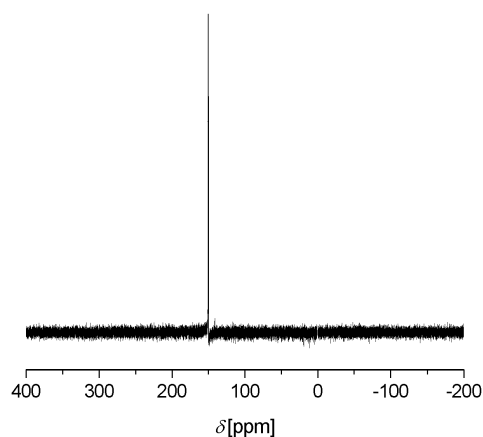


Abb. 28: ^{31}P -NMR (200 MHz in CDCl_3) der Verbindung **31**.

Zur Bestimmung des Extinktionskoeffizienten, welcher zur Konzentrationsbestimmung der DNA benötigt wurde, wurde ferner die Verbindung **30** gemäß dem in Abb. 29 gezeigten Schema synthetisiert. Diese konnte auch für Vor-Experimente zur Bildung von NHC-Komplexen in Wasser eingesetzt werden.

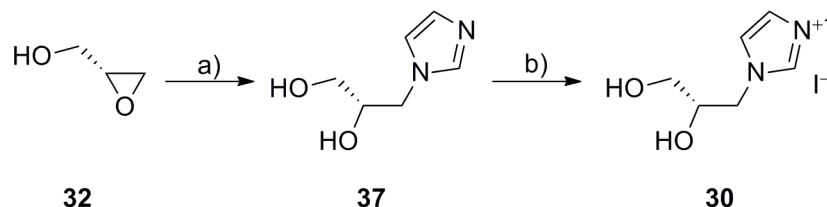


Abb. 29: Syntheseroute der Verbindung **30**. Reaktionsbedingungen: a) Imidazol **34**, K_2CO_3 , DMF, 70 °C, 1 h, dann **32**, RT, 48 h, 62%; b) CH_3I , CH_3CN , RT, 20 h, 96%.

Die zweistufige Synthese erfolgte in Anlehnung an die Synthese von **36**. Der erste Schritt zu **37** war die beschriebene¹³² Ringöffnung von **32** mit Imidazol **34** und K_2CO_3 . Anschließend erfolgte *N*-Methylierung zum Imidazoliumsalz **30** unter Verwendung eines 20fachen Überschusses an CH_3I in CH_3CN . Überschüssiges CH_3I wurde erneut über Nacht im N_2 -Strom vertrieben.

3.1.2 Einbau des Phosphoramidits **31** in Oligonukleotide

Der Einbau des Phosphoramidits **31** erfolgte *via* der von *Letsinger* und *Caruthers*¹³³ entwickelten Phosphoramidit-Chemie, deren Prinzip ausführlicher im Experimentaltail beschrieben ist. Unter Verwendung verschiedener DNA Synthesebedingungen wurden die in *Tab. 1* aufgelisteten Sequenzen erfolgreich synthetisiert.

Bezeichnung	Sequenz	ber. [M-H] ⁻	gef. [M-H] ⁻
ODN1	3'-TCACGXAGCAT-5'	3231	3229
ODN2	3'-ATGCTXCGTGA-5'	3260	3252
ODN3	3'-AGTGCXTCGTA-5'	3260	3263
ODN4	3'-TACGAXGCACT-5'	3241	3244
ODN5	3'-GTGTAATXCGAACAT-5'	4566	4569
ODN6	3'-ATGTTCGXATTACAC-5'	4499	4502

Tab. 1: Übersicht der unter Verwendung von Phosphoramidit **31** synthetisierten Oligonukleotide sowie deren berechnete und gefundene MALDI-TOF-Daten. X steht für die Imidazoliummodifikation auf GNA-Basis.

Allen Synthesen gemeinsam sind die ineffizienten Kupplungen und damit geringen Ausbeuten, die erhalten wurden. Sowohl eine Erhöhung der Konzentration des Phosphoramidits **31** in CH₃CN (0.1 M bis 0.3 M) als auch verlängerte Kupplungszeiten sowie wiederholte Kupplungen (Doppelkupplungen) brachten keine wesentlichen Verbesserungen. Hinzu kamen stets aufwendige Aufreinigungen mittels HPLC (*Abb. 30*), welche weitere Ausbeuteverluste zur Folge hatten.

Die modifizierten Oligonukleotide wurden massenspektrometrisch mittels MALDI-TOF- sowie ESI-MS-Spektroskopie nachgewiesen (*Abb. 31*). Ferner wurde ein enzymatischer Totalverdau durchgeführt, um die Existenz der eingebauten Modifikation nachzuweisen. Dies geschah unter Verwendung von *snake venom* Phosphodiesterase I (*Crotalus adamanteus venom*) zur Spaltung der Phosphordiester Bindungen ausgehend vom 3'-Ende und *calf*

intestinal Phosphatase (CIP), mit der die Abtrennung der Phosphatgruppen am 5'-Ende katalysiert wird.

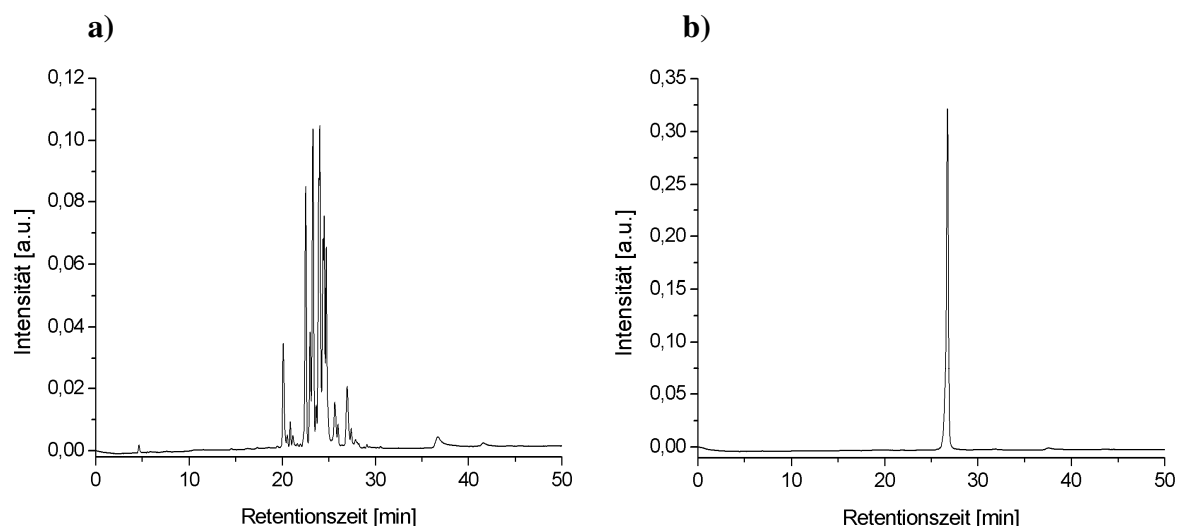


Abb. 30: HPL-Chromatogramme von imidazoliummodifizierter DNA (**ODN1**). a) unaufgereinigter Strang; b) Strang nach mehrfacher Aufreinigung.

Die DNA-Stränge wurden dazu mit Verdau-Puffer versetzt und in Gegenwart von *snake venom* Phosphodiesterase I für 6 h bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurde CIP zugegeben und weitere 15 min bei 37 °C inkubiert. Nach Zentrifugieren der Proben erfolgte deren Analyse mittels HPLC sowie LC/ESI-MS. Die erhaltenen Daten, die in Abb. 32 gezeigt sind, belegen den erfolgreichen Einbau der neuen Modifikation, die mit dA als Dinukleotid vorlag (Abb. 32b); ber. 514.1457, gef. 514.1452; die Masse 558.1341 ergibt sich durch ein weiteres Formiat-Addukt.

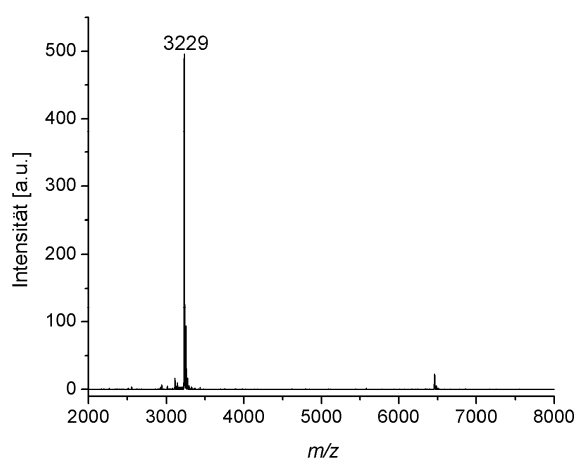


Abb. 31: MALDI-TOF-Spektrum des gereinigten DNA-Stranges **ODN1** (ber. 3231, gef. 3229).

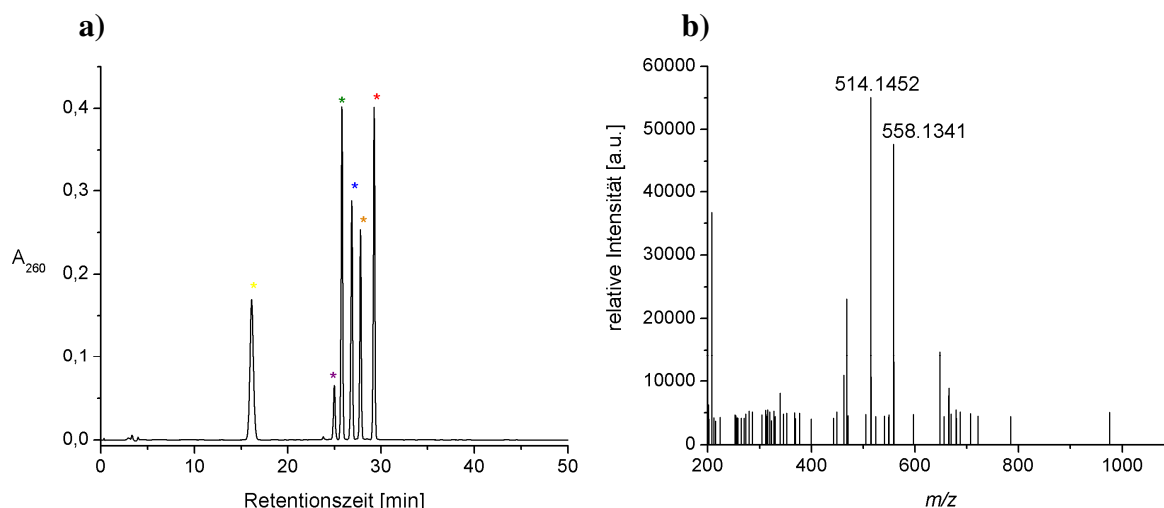


Abb. 32: a) HPL-Chromatogramm des enzymatisch verdauten **ODN1**. Mit aufsteigender Zeit eluierten dC (*), dI (*), dG (*), dT (*), dA (*) sowie die neue Modifikation (*); b) zugehöriges ESI-Massenspektrum.

3.1.3 Schmelzkurvenexperimente

Zur Bestimmung der Stabilität imidazoliummodifizierter DNA sowie für Vergleiche vor und nach Umsetzungen mit Metallsalzen wurden Schmelzkurvenexperimente durchgeführt. Dazu wurden die komplementären Stränge (3 μ M) in Tris/NaCl Puffer (pH 7.4) gelöst und langsam auf 85 °C erwärmt. Nachdem die Proben für etwa 10 min bei dieser Temperatur gehalten wurden, erfolgte langsames Abkühlen über Nacht. Im Anschluss erfolgten mindestens sechs Messungen der Absorption bei 260 nm sowie des Hintergrunds bei 320 nm während des Aufheizens sowie Abkühlens. Nähere Details zur Ermittlung der Schmelzpunkte sind im Experimententeil beschrieben. In Abb. 33 ist eine typische normierte Schmelzkurve von **ODN1** und **ODN2** gezeigt. Der Schmelzpunkt T_m , das heißt die Temperatur, bei der 50% des Duplex in seine Einzelstränge dissoziiert ist, betrug unter den gegebenen Bedingungen 33.8 °C.

Zum Vergleich wurden Schmelzpunkte derselben Sequenz bestimmt, die anstelle der Modifizierung ein dA–dT-Basenpaar aufwies. Ferner wurden Schmelzkurven von *mismatch*-Paarungen bestimmt, bei denen sich jeweils eine natürliche Base gegenüber der Modifikation befand. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 dargestellt.

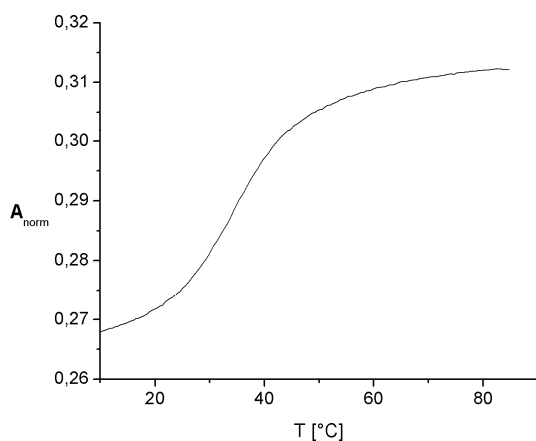


Abb. 33: Schmelzkurve der Imidazolium DNA; **ODN1** und **ODN2**, 3 μ M, 150 mM NaCl, 10 mM Tris (pH 7.4).

Sequenzen (3'→5')	Fehlpaarung	T _m [°C]	ΔT [°C]
TCACGTAGCAT AGTGCATCGTA	-	51.3	-
TCACG X AGCAT AGTGC X TCGTA	X-X	33.8	-17.5 ^a
TCACG X AGCAT AGTGCATCGTA	X-dA	30.6	-20.7 ^a / -3.2 ^b
TCACG X AGCAT AGTGCCTCGTA	X-dC	29.4	-21.9 ^a / -4.4 ^b
TCACG X AGCAT AGTG C GTCGTA	X-dG	27.8	-23.5 ^a / -6.0 ^b
TCACG X AGCAT AGTGCTTCGTA	X-dT	27.1	-24.2 ^a / -6.7 ^b

^a ΔT bezogen auf die nichtmodifizierten Stränge mit dA–dT-Basenpaar; ^b ΔT bezogen auf die modifizierten Stränge mit XX-Basenpaar. Die Abkürzung X steht für die Imidazolium-Modifikation auf GNA-Basis.

Tab. 2: Übersicht der ermittelten Schmelzpunkte.

Aus den ermittelten Daten ist ersichtlich, dass der Einbau der azyklischen Imidazolium-modifikation zu einer deutlichen Destabilisierung der jeweiligen Duplex-Strukturen führt.

Schlegel konnte zeigen, dass bereits der Austausch von einem dT durch ein glycol-modifiziertes T im Falle des (*S*)-Nukleosids zu einer Absenkung des T_m um 13 °C führte.⁵³ Im Falle des (*R*)-Nukleotids wurde hingegen ein weniger starke Absenkung um 7 °C beobachtet. Die in dem vorliegenden Fall etwas höher gemessene Differenz kann zusätzlich durch negativ wirkende, elektrostatische Wechselwirkungen beider gegenüberstehender Modifikationen begründet werden. Die gemessenen Werte der *mismatch*-Paarungen zeigten weitere Abnahmen der Schmelztemperaturen von etwa 3 °C für dA und bis zu knapp 7 °C für dT.

3.1.4 Studien zum Komplexierungsverhalten

Zur Bildung des Metall-NHC-Basenpaares wurden die modifizierten Oligonukleotide **ODN1/ODN2** sowie das Nukleosid **30** mit basischen Silbersalzen in Wasser bzw. wässrigem gepuffertem Medium versetzt. In aller Regel wird zur Synthese von Silber-NHC-Komplexen Ag_2O eingesetzt, wobei diese Umsetzungen überwiegend in CH_2Cl_2 stattfinden.⁸⁹ Es sind jedoch in der Literatur wenige Umsetzungen entsprechender Azoliumsalze mit Ag_2O in Wasser beschrieben.¹⁰⁰ Da Ag_2O in sämtlichen Lösemitteln praktisch unlöslich ist, konnten UV/Vis-Experimente mit **ODN1/ODN2** sowie mit Verbindung **30** nicht wie üblich – durch Zugabe von wässrigen Lösungen der jeweiligen Metallsalze – durchgeführt werden. Die Zugabe von festem Ag_2O hat jedoch zur Folge, dass einerseits stets sehr hohe Überschüsse zugegeben werden und auf der anderen Seite sämtliche Experimente unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt werden. Dies wird durch schwankende Einwaagen verursacht.

Um diese Problematik zu umgehen, wurde versucht, Ag_2O *in situ* aus $AgNO_3$ (5 mM in Wasser) und KOH (10 mM in Wasser) herzustellen, wobei stets angenommen wurde, dass die Verwendung von 2 eq $AgNO_3$ zur Bildung von 1 eq Ag_2O führte. Auf diese Weise sollten verdünnte Lösungen von Ag_2O vorliegen, mit denen UV/Vis-Experimente durchgeführt werden konnten. Dazu wurden **ODN1/ODN2** in gleicher Weise wie bei den Schmelzkurvenexperimenten hybridisiert und mit *in situ* erzeugtem, wässrigem Ag_2O versetzt. Die Mischungen wurden abgedunkelt bei Temperaturen zwischen 25 °C und 50 °C geschüttelt. Die Reaktionszeiten betrugen bis zu 24 h. Experimente mit wässrigen Lösungen von Verbindung **30** (0.2 mM) wurden analog durchgeführt. Die erhaltenen Spektren sind in *Abb. 34* gezeigt.

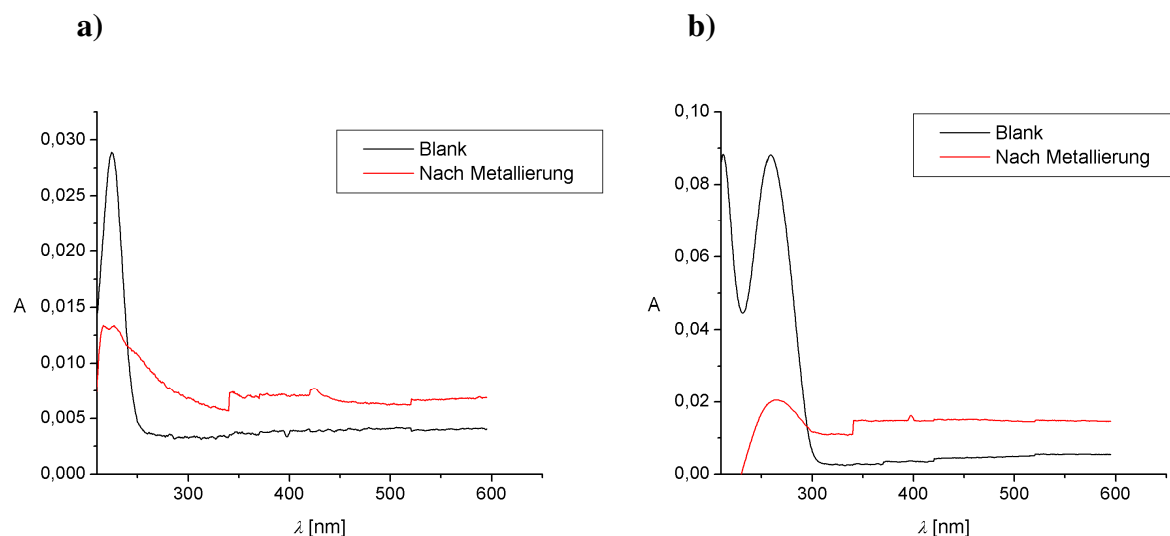


Abb. 34: Titrationsexperimente mit *in situ* erzeugtem Ag_2O ; a) Umsetzungen mit Verbindung **30**; b) Umsetzungen mit **ODN1/ODN2** (3 μM , 150 mM NaCl, 10 mM Tris (pH 7.4)). Die Spektren wurden unmittelbar nach Zusammengeben der Reagenzien bei Raumtemperatur aufgenommen.

Die Zugabe von Ag_2O führte in beiden Fällen zu Präzipitationen. Dies kann zumindest im Fall der Umsetzungen mit Verbindung **30** als Indiz für die Bildung eines Silber-NHC-Komplexes verstanden werden. Kürzlich wurde publiziert, dass Reaktionen von Cu_2O in Wasser entsprechende Kupfer-NHC-Komplexe lieferte, die ebenfalls präzipitierten.⁹⁵

Neben UV/Vis-Messungen wurden auch ESI-MS-Messungen durchgeführt. Die Bildung eines Silber-NHC-Basenpaares konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Nachfolgende Transmetallierungen mit Pd^{2+} führten ebenfalls nicht zur Bildung des gewünschten Metall-Basenpaares. Hierbei wurden sowohl $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ in Wasser als auch $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ in CH_3CN (jeweils 1 mM) eingesetzt. Zur näheren Untersuchung, wie sich Silber- und Palladium-NHC-Komplexe unter ESI-MS-Bedingungen verhalten, wurden die entsprechenden Verbindungen synthetisiert. Dies erfolgte nach publizierten Methoden sowohl in Wasser als auch in CH_2Cl_2 . Als Vorstufen wurden sämtliche im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Imidazolium- sowie Thiazoliumsalze eingesetzt. Im Fall der Silber-NHC-Komplexe konnte jedoch ausschließlich $[\text{AgI}_2]^-$ nachgewiesen werden, das in NHC-Komplexen oftmals als Gegenion präsent ist.¹³⁴ Palladium-NHC-Komplexe konnten nicht nachgewiesen werden. Die Problematik einer teilweisen Instabilität diverser NHC-Komplexe unter ESI-MS-Bedingungen ist in der Literatur beschrieben.¹³⁵

Zur Bildung von Silber-NHC-Komplexen können, wie bereits erwähnt wurde (siehe 1.3.1) neben Ag_2O auch Ag_2CO_3 sowie AgOAc eingesetzt werden.

Experimente von **ODN1/ODN2** mit Lösungen beider Salze führten jedoch ebenfalls nicht zur Bildung des Metall-NHC-Basenpaares. Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher keine weiteren Optimierungen zur Realisierung dieses Metall-Basenpaares unternommen.

3.2 Darstellung von imidazolium- und thiazoliummodifizierten Oligonukleotiden als Vorstufen neuer DNA-Hybridkatalysatoren

Auf dem Weg zu neuen DNA-Hybridkatalysatoren auf NHC-Basis, wie in *Abb. 35* schematisch dargestellt ist, musste zunächst überprüft werden, ob einfache bzw. doppelte postsynthetische Modifizierungen von Oligonukleotiden mit Azoliumsalzen unter den Bedingungen der Cu^{I} -katalysierten Click Reaktion prinzipiell möglich sind.

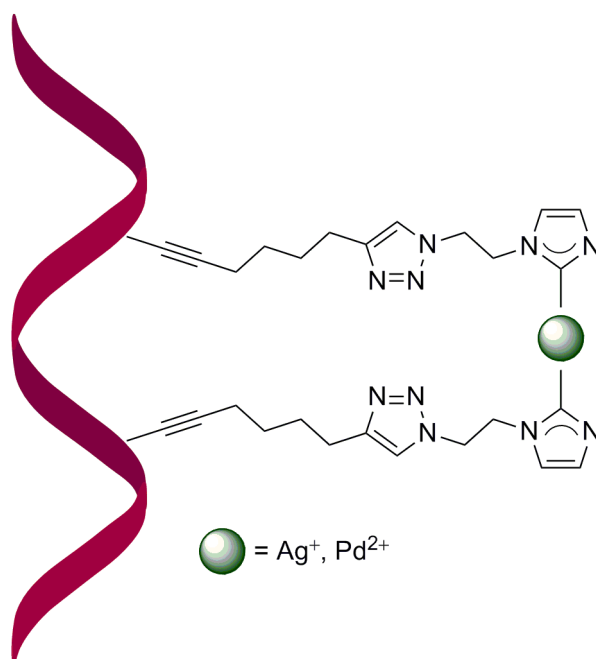


Abb. 35: Schematische Darstellung eines NHC-Komplexes auf DNA-Basis. Gezeigt ist in diesem Fall die entsprechende Komplexverbindung, die aus **ODN8** und Azoliumsalz **38** resultiert.

In Analogie dazu wurde ferner untersucht, ob die Modifizierung von Oligonukleotiden mit Azoliumsalzen auch unter Verwendung von azidmodifizierter DNA und alkinmodifizierten Azoliumsalzen möglich ist. Insgesamt wurden drei Azoliumsalze für die Click Chemie ausge-

wählt, die in *Abb. 36* gezeigt sind. Die *N*-substituierten Verbindungen **38** und **39** wurden ausgewählt aufgrund einer deutlich vereinfachten Darstellbarkeit im Vergleich zu den C-substituierten Verbindungen, da sämtliche Schritte, die in Zusammenhang mit Schützungen und Entschützungen stehen, entfallen. Die gezeigte C-substituierte Thiazoliumverbindung **40** wurde aufgrund der kommerziellen Verfügbarkeit der entsprechenden Vorstufe gewählt. Ferner stand eine Vorstufe dieser Verbindung, die für die Synthese von azidmodifiziertem Thiamin (siehe 3.2.4.1) benötigt wurde, bereits zur Verfügung.

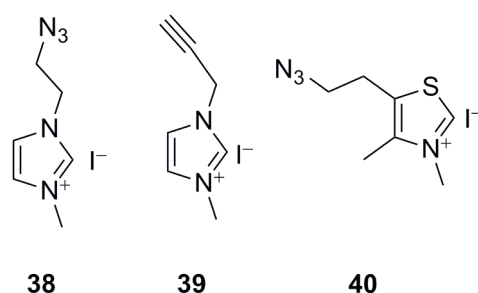


Abb. 36: Ausgewählte Azoliumsalse **38**, **39** und **40** zur postsynthetischen Modifizierung von Oligonukleotiden *via* Cu^I-katalysierter Click Chemie.

Da die entsprechenden Azidbausteine nicht kommerziell erhältlich waren, mussten diese, wie nachfolgend beschrieben, erst synthetisiert werden. Auf die Synthese von **40** wird in Abschnitt 3.2.4.1.3 eingegangen.

3.2.1 Synthese der Imidazoliumsalse **38** und **39**

Die Synthese von 1-(2-Azidoethyl)-3-methyl-1*H*-imidazoliumiodid **38** ist schematisch in *Abb. 37* dargestellt. Die einfach durchzuführende dreistufige Synthese begann mit der Mesylierung von 2-(1*H*-Imidazol-1-yl)ethanol **41**, welches käuflich erworben werden konnte. Durch Deprotonierung mit NEt₃, gefolgt von der Zugabe von Methansulfonsäurechlorid konnte Verbindung **42** nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur und nach säulenchromatographischer Aufreinigung in moderaten Ausbeuten erhalten werden. Anschließend Substitution mit NaN₃ in DMF lieferte – ebenfalls nach Rühren bei Raumtemperatur über Nacht und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie – das Azid **43** in guten Ausbeuten. Im letzten Schritt erfolgte eine *N*-Methylierung, die mit 10 eq CH₃I in CH₃CN durchgeführt wurde. Überschüssiges CH₃I sowie Lösemittel wurden nach der bewährten Methode durch

Einleiten von N₂ über Nacht entfernt. Verbindung **38** konnte in quantitativer Ausbeute im letzten Schritt erhalten werden.

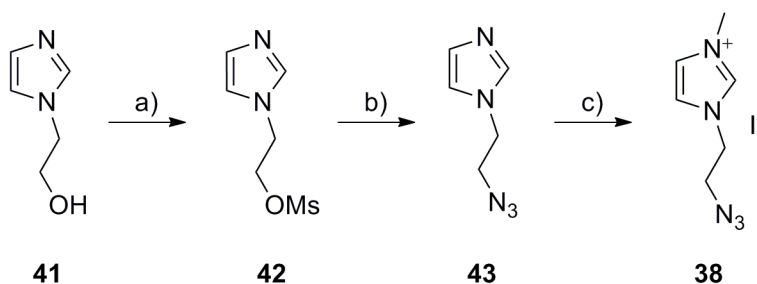


Abb. 37: Schematische Darstellung der Synthese von Verbindung **38**. Reaktionsbedingungen: a) NEt₃, MsCl, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, RT, 16 h, 53%; b) NaN₃, DMF, RT, 22 h, 78%; c) CH₃I, CH₃CN, RT, 18 h, quantitativ.

Das für die Click Chemie mit azidmodifizierter DNA benötigte Alkin **39** wurde in einer zweistufigen Synthese erhalten (Abb. 38). Vereinfachend war, dass keine Aufreinigungen mittels Säulenchromatographie nötig waren. Die Synthese begann mit der – in der Literatur¹³⁶ bekannten – Einführung der Alkinkette durch Deprotonierung von Imidazol **34** mit *n*BuLi bei –78 °C für 2 h, gefolgt von der Zugabe von Propargylbromid. Verbindung **44** konnte nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur und Aufreinigung mittels Destillation unter vermindertem Druck erhalten werden. Nach *N*-Methylierung unter Verwendung von CH₃I in CH₃CN wurde das Imidazoliumsalz **39** als gelber Feststoff in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten.

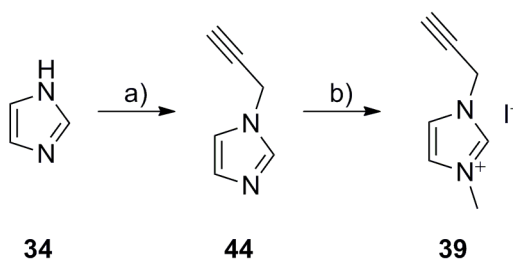


Abb. 38: Schematische Darstellung der Synthese der Verbindung **39**. Reaktionsbedingungen: a) *n*BuLi, THF, –78 °C, 2 h, dann Propargylbromid, THF, –78 °C → RT, RT, 12 h, 67%; b) CH₃I, CH₃CN, RT, 17 h, 99%.

3.2.2 Click Chemie von **38** und **40** mit Alkin-DNA sowie **39** mit Azid-DNA

Sämtliche Click Experimente mit den Aziden **38** und **40** wurden mit Oligonukleotiden durchgeführt, welche freundlicherweise von Mitgliedern der Arbeitsgruppe *Carell* zur Verfügung gestellt wurden und die folgende Sequenzen hatten:

ODN7: 3'-GCG CTT ACX TGT CGC G-5'

ODN8: 3'-GCG CTT ACX XGT CGC G-5'

Der Rest X bezeichnet 5-(Octa-1,7-diinyl)-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-3'-O-[(2-cyanoethoxy)(diisopropylamino)-phosphino]-2'-desoxyuridin **45**.¹³⁷

Die Durchführung der Click-Experimente erfolgte unter den in der Arbeitsgruppe *Carell* etablierten Bedingungen.⁷⁹ Wässrige Lösungen der Oligonukleotide **ODN7/ODN8** wurden mit 200fachem Überschuss der Azide **38** und **40** in DMSO (0.1 M) versetzt. Frisch hergestellte Lösungen von CuBr (0.1 M) sowie TBTA (0.1 M) in DMSO wurden vermischt und unmittelbar zugegeben. Die Reaktionsmischungen wurden bei Temperaturen von 30 °C bis 40 °C für 2 bis 4 h geschüttelt und für MALDI-TOF-Messungen über *Millipore*-Membranen entsalzt. Alternativ wurden Ethanolfällungen durchgeführt. Die erfolgreiche einfache Modifizierung (**ODN7**) sowohl mit dem Imidazoliumsalz **38** als auch mit dem Thiazoliumsalz **40** ist anhand der in *Abb. 39* gezeigten Spektren deutlich zu erkennen. Im Fall der Imidazoliumverbindung **38** wurde auch unter veränderten Reaktionsbedingungen, wie Anheben der Äquivalente sowohl des Azids als auch von CuBr/TBTA um den Faktor 5, Erhöhen der Reaktionszeit auf bis zu 24 h sowie Erhöhen der Temperatur auf bis zu 50 °C, kein vollständiger Umsatz erreicht (*Abb. 39b*). Die erfolgreiche einfache Modifizierung von **ODN7** mit den Verbindungen **38** und **40** wurde durch enzymatischen Totalverdau sowie LC-ESI-MS bewiesen. Ebenso erfolgreich verlief die doppelte Modifizierung von **ODN8**.

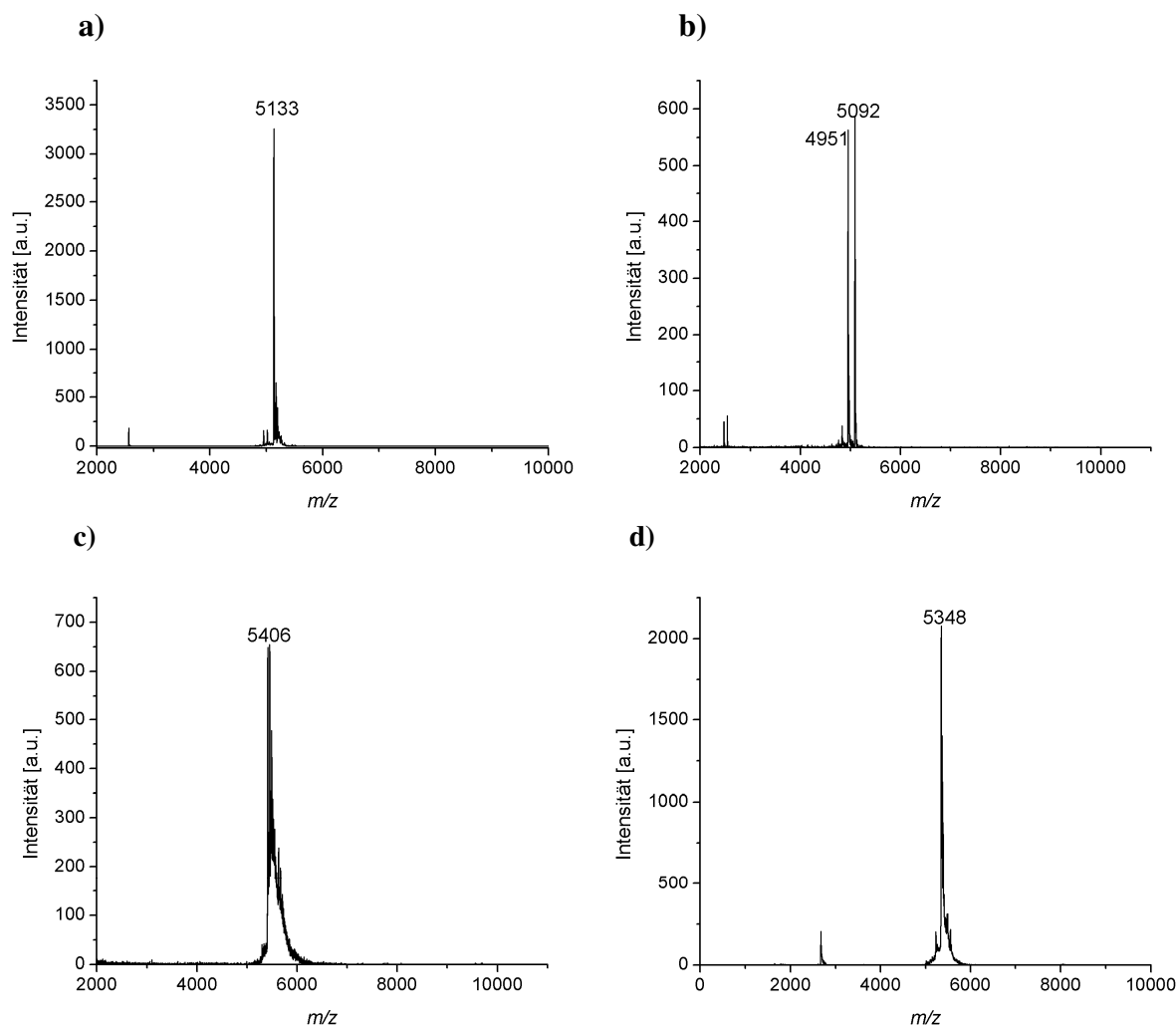


Abb. 39: MALDI-TOF-Spektren nach Click Chemie von **ODN7**. a) Verwendung von Verbindung **40** (ber. 5134, gef. 5133); b) Verwendung von Verbindung **38** (ber. 5103, gef. 5092; Startmaterial 4951) sowie von **ODN8**. c) Verwendung von Verbindung **40** (ber. 5407, gef. 5406); d) Verwendung von Verbindung **38** (ber. 5345, gef. 5348).

Versuche zur Modifizierung von Oligonukleotiden unter Verwendung von azidmodifizierter DNA wurden erstmalig von *Seo*¹³⁸ beschrieben. Da die Versuche mit dem Alkin **39** in Anlehnung an diese Arbeiten erfolgten, soll hier auf eine ausführliche Beschreibung der zunächst nötigen postsynthetische Einführung der Azidfunktion am 5'-Ende der DNA verzichtet werden. Auf die Synthese der DNA Stränge (**ODN9**) wird im Experimentalteil eingegangen. Die Click-Experimente wurden unter den gleichen Bedingungen durchgeführt, wie oben bereits beschrieben. Sie waren ebenfalls erfolgreich, wie das MALDI-TOF-Spektrum in Abb. 40 zeigt. Weitere Versuche mit azidmodifizierter DNA wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt.

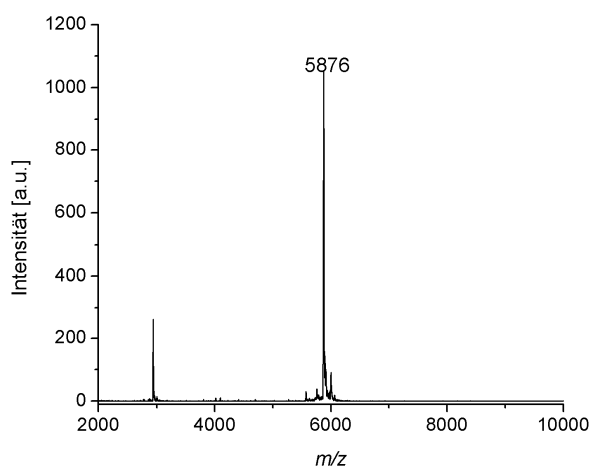


Abb. 40: Die Click Reaktion von Azidmodifizierter DNA (ODN9) mit Verbindung **39** führte ebenfalls zum gewünschten Produkt.

3.2.3 Experimente zur Darstellung von NHC-Komplexen auf DNA-Basis

Durch Umsetzungen der doppelt modifizierten Oligonukleotide mit basischen Silbersalzen sowie etwaigen Transmetallierungen, beispielsweise mit Pd^{2+} , sollten NHC-Komplexe auf DNA-Basis zugänglich sein. In Analogie zu den imidazoliummodifizierten Strängen (ODN1/ODN2) wurde versucht, sowohl die thiazoliummodifizierte DNA als auch die imidazoliummodifizierte DNA Umsetzungen mit Ag_2O in Wasser umzusetzen. Ag_2O wurde dabei in fester Form zugegeben. Die erfolgreiche Bildung der entsprechenden Silber-NHC-Komplexe konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Die Verwendung von Ag_2CO_3 war ebenfalls nicht erfolgreich. Auch durch nachfolgende Umsetzungen mit $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ konnten keine entsprechenden NHC-Komplexe nachgewiesen werden. Aufgrund der bereits beschriebenen Problematik der Darstellung von NHC-Komplexen in Wasser sowie deren Stabilität unter ESI-MS-Bedingungen wurden im Rahmen dieser Arbeit keine weiteren Versuche zur Darstellung von NHC-Komplexen in DNA-Strängen durchgeführt.

3.2.4 Entwicklung eines neuen DNA-Hybridkatalysators auf Thiamin-Basis

Im Rahmen dieser Arbeit wurde nachfolgend versucht, DNA-Hybridkatalysatoren auf Thiamin-Basis – eine natürliche N(S)HC Vorstufe – *via* Cu^{I} katalysierter Click Chemie zu entwickeln.

3.2.4.1 Synthese von Thiamin Azid **46**

3.2.4.1.1 Retrosynthetische Überlegungen

Da eine direkte Umsetzung von kommerziellem Thiamin mit NaN_3 über das entsprechende Tosylat nicht zum Azid **46** führte, wurde eine Totalsynthese durchgeführt. Abb. **41** zeigt die dazugehörigen retrosynthetischen Überlegungen.

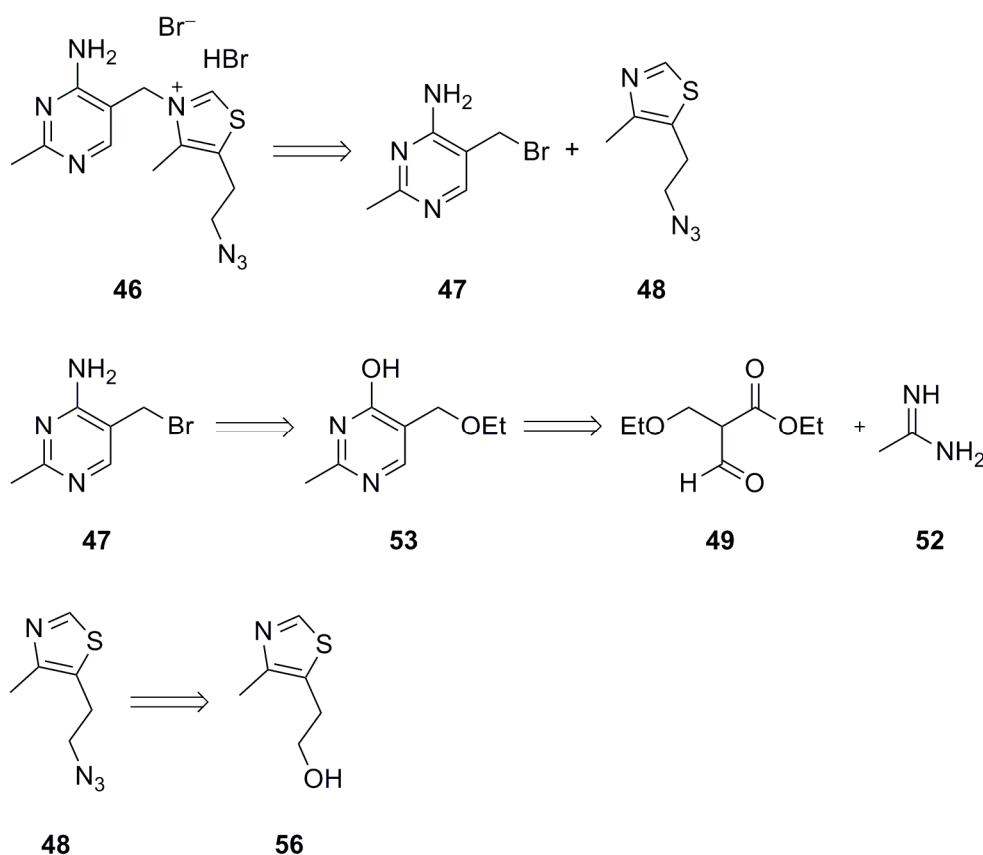


Abb. **41**: Retrosynthetische Überlegungen zur Darstellung Thiamin Azid **46**.

Die Zielverbindung **46** besteht aus einem Pyrimidin-Derivat **47** sowie einem Thiazol-Derivat **48**. Durch Kondensation des Diketons **49** – erhältlich aus Ethylformiat **50** und Ethylacrylat **51** – mit Acetamidin Hydrochlorid **52** sollte das Pyrimidin-Derivat **53** erhalten werden. Dieser Alkohol sollte in drei weiteren Schritten über das entsprechende Chlorid **54** zum Amin **55** umgesetzt werden und schließlich zu Verbindung **47** reagieren. Letztlich sollte eine $\text{S}_{\text{N}}2$ Reaktion von **47** mit **48** zum Thiamin Azid **46** führen. Die benötigte Thiazolverbindung **48** sollte aus dem entsprechenden Alkohol **56** erhalten werden, der kommerziell erhältlich ist. Mesy-

lierung von **56** sollte zur Verbindung **57** führen, welche im letzten Schritt in Gegenwart von NaN_3 zum Azid **48** umgesetzt werden sollte.

3.2.4.1.2 Synthese des Pyrimidin-Derivats **47**

Das Pyrimidin-Derivat **47** konnte in einer vierstufigen Synthese in guten Ausbeuten erhalten werden (Abb. 42).

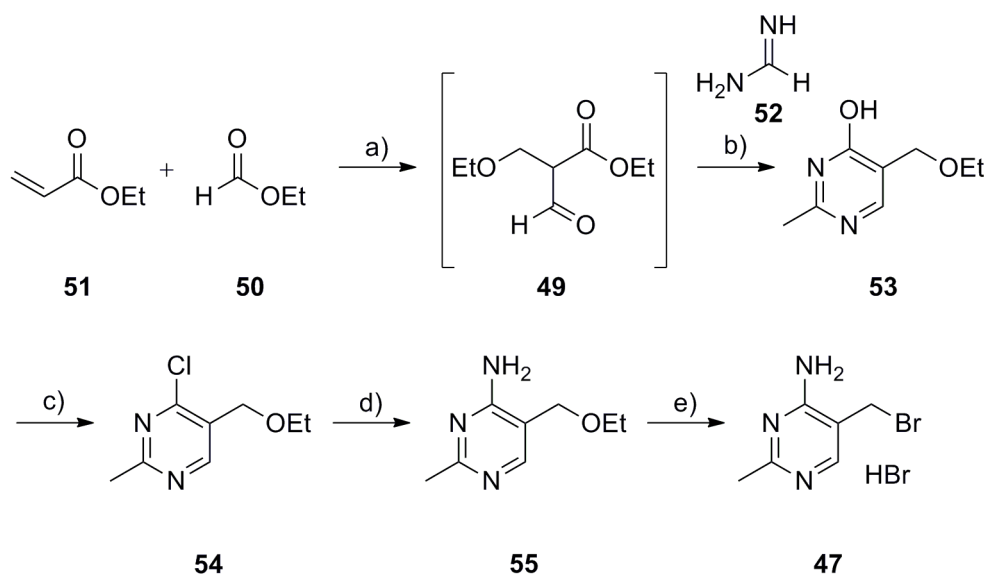


Abb. 42: Schematische Darstellung der Synthese des Pyrimidin-Derivats **47**. Reaktionsbedingungen: a) + b) NaOEt , Acetamin-HCl **52**, Petrolatum, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h, 6% (2 Stufen); c) POCl_3 , $78\text{ }^\circ\text{C}$, 3h, 87%; d) NH_3 (7 M in CH_3OH), 24 h, $140\text{ }^\circ\text{C}$, 88%; e) HBr (33% in HOAc), 3 h, $100\text{ }^\circ\text{C}$, 86%.

Lediglich der erste Schritt der Synthese, der Aufbau des Pyrimidin-Rings, verlief in geringen Ausbeuten. In diesem wurde zunächst das Diketon **49**, ausgehend von Ameisensäureethylester **50**, Ethylacrylat **51** sowie Ethanolat gebildet, welches mit Acetamin Hydrochlorid **52** über Nacht bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ zum Alkohol **53** kondensiert wurde. Da Ausbeuten von unter 10% erhalten wurden, wurden die Ansätze entsprechend vergrößert, um ausreichende Mengen für weitere Umsetzungen zu erhalten.

Ein möglicher Reaktionsmechanismus ist in Abb. 43 gezeigt. Ausgehend vom Michael-System **51**, das von Ethanolat angegriffen wird, wird ein Nukleophil generiert, das **52** angreift und nach Eliminierung von Ethanolat zu **49** führt. Dieses führt nach Protonierung und nukleophilem Angriff von Acetamin Hydrochlorid **52** über mehrere Schritte zu **53**.

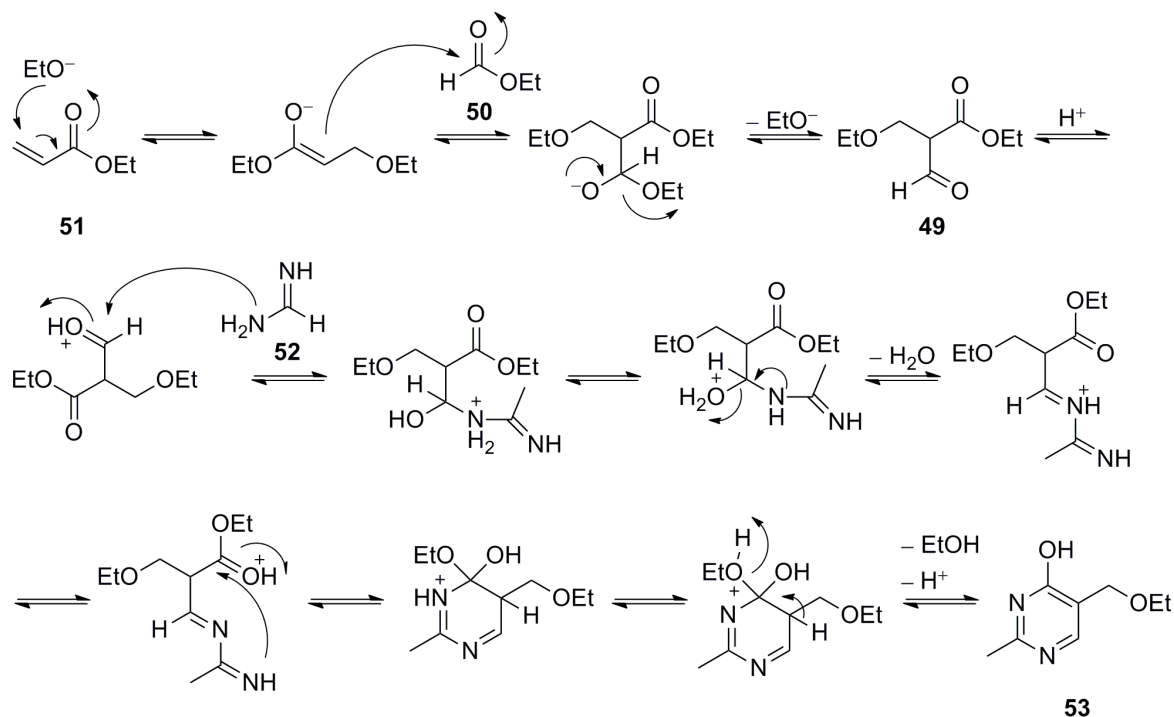


Abb. 43: Möglicher Reaktionsmechanismus zur Bildung von **53**.

Der erhaltene Pyrimidin-Alkohol **53** wurde im Anschluss mit POCl_3 in das entsprechende Chlorid **54** überführt, das mit Ammoniak in Methanol zum Amin **55** umgesetzt wurde. Beide Verbindungen (**54** und **55**) konnten nach Ausfällen mit Ether und ohne weitere Reinigungsschritte in Ausbeuten von mehr als 80% jeweils als kristalline Feststoffe erhalten werden. In einer folgenden $\text{S}_{\text{N}}2$ Reaktion von **55** mit HBr in Eisessig konnte das Hydrobromid von **47** – ebenfalls in guten Ausbeuten – durch Präzipitation mit Ether als kristalliner Feststoff isoliert werden.

3.2.4.1.3 Synthese des Thiazol-Derivats **48**

Das Thiazol-Derivat **48**, das sowohl für die Synthese von **46** als auch zur Umsetzung zu **40** benötigt wurde, konnte in einer zweistufigen Synthese erhalten werden (Abb. 44). Ausgehend von dem kommerziell erhältlichen Alkohol **56** wurde zunächst eine Mesylierung und im Anschluss eine nukleophile Substitution mit Azid durchgeführt, wodurch **48** erhalten wurde. Beide Verbindungen **57** und **48** konnten jeweils nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie in guten Ausbeuten erhalten werden.

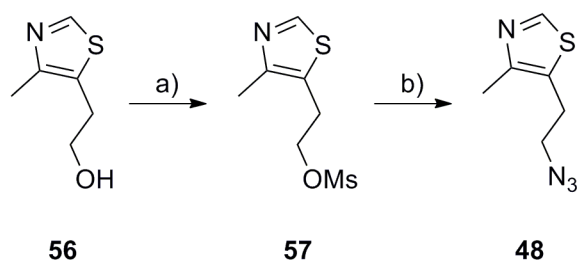


Abb. 44: Schematische Darstellung der Synthese von **48**. Reaktionsbedingungen: a) NEt₃, MsCl, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, RT, 24 h, 49%; b) NaN₃, DMF, RT, 24 h, 92%.

Das für die Click Chemie benötigte Thiazoliumsalz **40** wurde durch Umsetzen von **48** mit CH₃I in CH₃CN erhalten (ohne Abb). Nach Entfernen von überschüssigem CH₃I sowie Löse- mittel im N₂-Strom über Nacht blieb das Thiazoliumsalz **40** als farbloser Feststoff.

3.2.4.1.4 Synthese der Zielverbindung **46**

Der letzte Syntheseschritt war die in Abb. 45 gezeigte S_N2 Reaktion des Hydrobromids **47** mit 5-(2-Azidoethyl)-4-methylthiazol **48**. Nach 15minütigem Rühren des Reaktionsgemisches in *n*BuOH unter Rückfluss und anschließender Fällung mit EtOH konnte das Hydrobromid von azidmodifiziertem Thiamin **46** als kristalliner Feststoff in sehr hoher Reinheit, jedoch mit mäßiger Ausbeute erhalten werden.

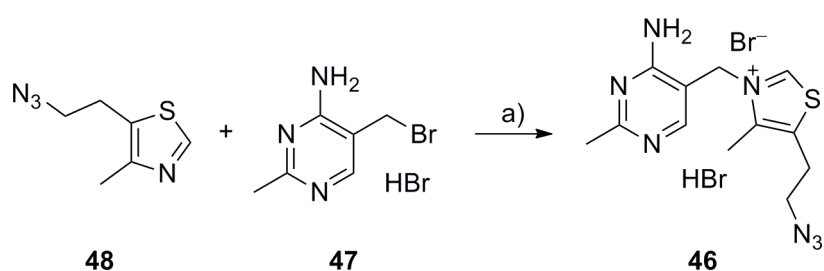


Abb. 45: Darstellung von **46**. Reaktionsbedingungen: a) *n*BuOH, 20 min, RF, 43%.

3.2.4.2 Click-Experimente

Click-Experimente wurden mit **ODN7** analog der bereits beschriebenen Verfahrensweise durchgeführt. Anhand dem in *Abb. 46* gezeigten MALDI-TOF-Spektrum ist die erfolgreiche und bislang nicht beschriebene Modifizierung eines Oligonukleotids mit Thiamin ersichtlich. Neben der prinzipiellen Verwendung eines solchen Hybrid-Moleküls als Katalysator, z.B. für *Stetter*-Reaktionen, ermöglicht das Molekül **46** darüberhinaus die Koordination verschiedener Metallionen. So ist einerseits die Bildung von entsprechenden N(S)HC-Komplexen denkbar, andererseits können auch an anderen Stellen Metallionen koordinieren.¹³⁹ Im Rahmen dieser Arbeit wurden jedoch aus Zeitgründen diesbezüglich keine weiteren Experimente durchgeführt.

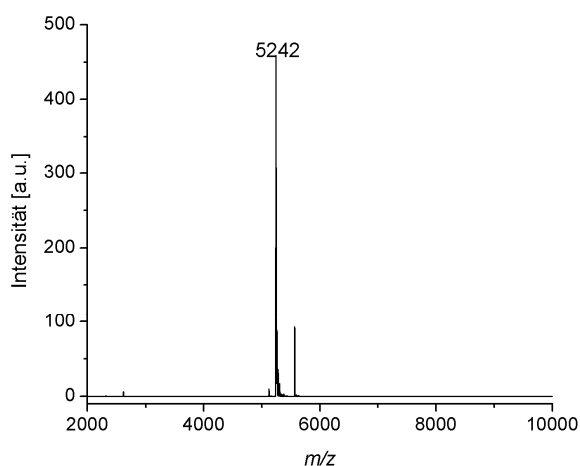


Abb. 46: MALDI-TOF-Spektrum von **ODN7** nach Click-Reaktion mit Verbindung **46** (ber. 5241).

3.3 Entwicklung eines schwefelhaltigen Metall-Basenpaars

3.3.1 Versuche zur postsynthetischen Darstellung von dithiocarbamat-modifizierten Oligonukleotiden

Grundsätzlich sind Dithiocarbamate (DTC) zugänglich, indem Amine in basischem Medium mit CS_2 umgesetzt werden. Gemäß diesem Prinzip wurde in Zusammenarbeit mit C. Kaul versucht, aminmodifizierte Oligonukleotide zu synthetisieren, um diese im Anschluss postsynthetisch mit CS_2 zu einem Dithiocarbamat zu modifizieren, um nach Zugabe diverser Metallionen, z.B. Pd^{2+} , Pt^{2+} oder Au^{3+} – wie in Abb. 47 veranschaulicht – sollten die jeweiligen Metall-Basenpaare erhalten werden. In der Literatur sind zahlreiche Komplexverbindungen dieser sowie anderer Metallionen mit DTC-Liganden beschrieben, die sowohl in organischen Lösemitteln als auch in Wasser erfolgreich synthetisiert werden konnten.

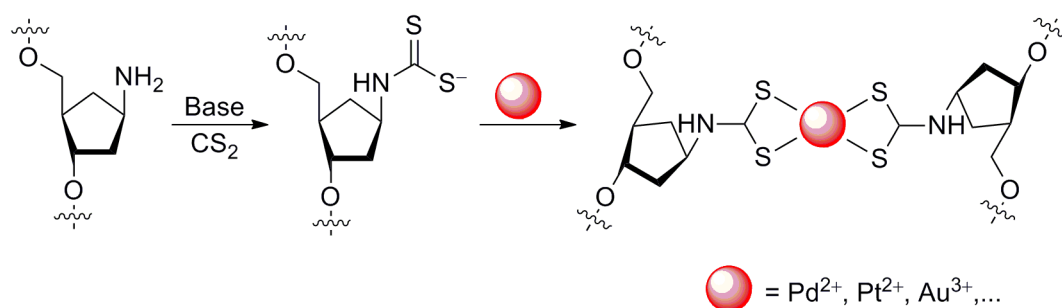


Abb. 47: Schematische Darstellung der Bildung eines Metall-DTC-Basenpaares.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden sowohl aminmodifizierte Oligonukleotide auf GNA-Basis als auch Oligonukleotide mit einem wie in Abb. 47 gezeigten carbozyklischem Rückgrat auf deren Verhalten gegenüber CS_2 näher untersucht. Die Darstellung der Amino-DNA mit carbozyklischem Rückgrat wurde bereits beschrieben.¹⁴⁰ Auf die Synthese aminmodifizierter DNA-Stränge mit GNA-Rückgrat wird im Experimentaltail eingegangen.

Zunächst erfolgten Umsetzungen mit CS_2 , welche in Anlehnung an Arbeiten von Liu¹⁴¹ durchgeführt wurden. Die Arbeitsgruppe benutzte endständig aminmodifizierte T_{15} -mere, um durch Reaktion mit CS_2 in wässrigem Borat-Puffer bei pH 9 dithiocarbamatmodifizierte Oligonukleotide zu erhalten. Bezüglich dieser Thematik stellte dies bis dato die einzige Ver-

öffentlichung dar. Die Bildung des Dithiocarbamats wurde durch Komplexierung von Cu^{2+} -Ionen mittels UV/Vis-Spektroskopie nachgewiesen.

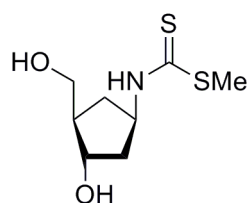
Im Gegensatz zu den publizierten Ergebnissen konnte jedoch die Bildung eines Dithiocarbamats unter verschiedenen Bedingungen¹⁴² weder mittels UV/Vis-Spektroskopie noch mit ESI-MS zweifelsfrei nachgewiesen werden. Anschließende Umsetzungen mit Cu^{2+} -Ionen waren ebenfalls nicht erfolgreich. Experimente mit zuvor hybridisierten, aminmodifizierten Oligonukleotiden, die zunächst mit CS_2 und anschließend mit Cu^{2+} -Ionen umgesetzt wurden, führten ebenfalls nicht zu einem Metall-DTC-Basenpaar.

Es wurde daher untersucht, ob die Realisierung ähnlicher schwefelhaltiger Metall-Basenpaare durch Einbau geeigneter Ligandoside möglich ist. Dithiocarbamatsalze sind in diesem Fall nicht geeignet, da sie nicht mit der DNA-Synthesechemie kompatibel sind. Es wurde daher die sehr ähnliche Verbindungsklasse der *S*-Alkyl-dithiocarbamate gewählt, wobei hinsichtlich sterischer Überlegungen *S*-Methyl-dithiocarbamate (MDTC) am geeignetsten erschienen. Im folgenden Abschnitt wird auf die Entwicklung eines Metall-MDTC-Basenpaares näher eingegangen.

3.3.2 Entwicklung eines Metall *S*-Methyl-dithiocarbamat (MDTC) Basenpaares

3.3.2.1 Überlegungen zur Synthese von *S*-Methyl-dithiocarbamatmodifizierter DNA

Auf dem Weg zu dem neuen schwefelhaltigen Metall-Basenpaar wurde ein geeignetes Ligandosid wie **58** benötigt. Die Struktur der dazu gewählten Verbindung ist in Abb. 48 gezeigt.



58

Abb. 48: Schwefelhaltiges Ligandosid **58** zur Komplexierung weicher Metallionen.

Dieses sollte ein carbozyklisches Rückgrad besitzen, da in der Arbeitsgruppe *Carell* bereits eine etablierte Synthese zum dafür benötigten Amin **59** entwickelt worden war und dieses somit leicht zugänglich war. Aus retrosynthetischer Perspektive sind hierbei mehrere Möglichkeiten denkbar. Eine sinnvolle Synthesestrategie ist in *Abb. 49* gezeigt.

Diese Synthesestrategie beginnt, ausgehend von (1*R*,4*S*)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on **60**, mit der Herstellung des *N*-Boc-geschützten Amins **61**. Dies kann in einer fünfstufigen Synthese, die im Arbeitskreis von *Carell*¹⁴² bereits etabliert war, leicht erhalten werden. Nach Entschützung zum freien Amin **59** folgt die Umsetzung zum *S*-Methyl-dithiocarbamat **58**, die als Schlüsselschritt betrachtet werden kann. Dies ist sowohl durch Reaktion mit CS₂ zum Dithiocarbamatsalz, gefolgt von *S*-Methylierung, als auch durch Verwendung von thiocarbonylübertragenden Reagenzien möglich. Da in sämtliche Überlegungen miteinbezogen werden muss, dass **59** sehr empfindlich gegenüber Sauerstoff ist und bei dessen Verwendung daher alle Reagenzien entgast werden müssen, ist die Variante mit den ohnehin sehr toxischen Flüssigkeiten CS₂ und CH₃I nicht unbedingt zu empfehlen. Durch Einführung der DMTr-Gruppe in 5'-Position sollte Verbindung **62** erhalten werden, die im letzten Schritt zum Phosphoramidit **63** umgesetzt werden sollte.

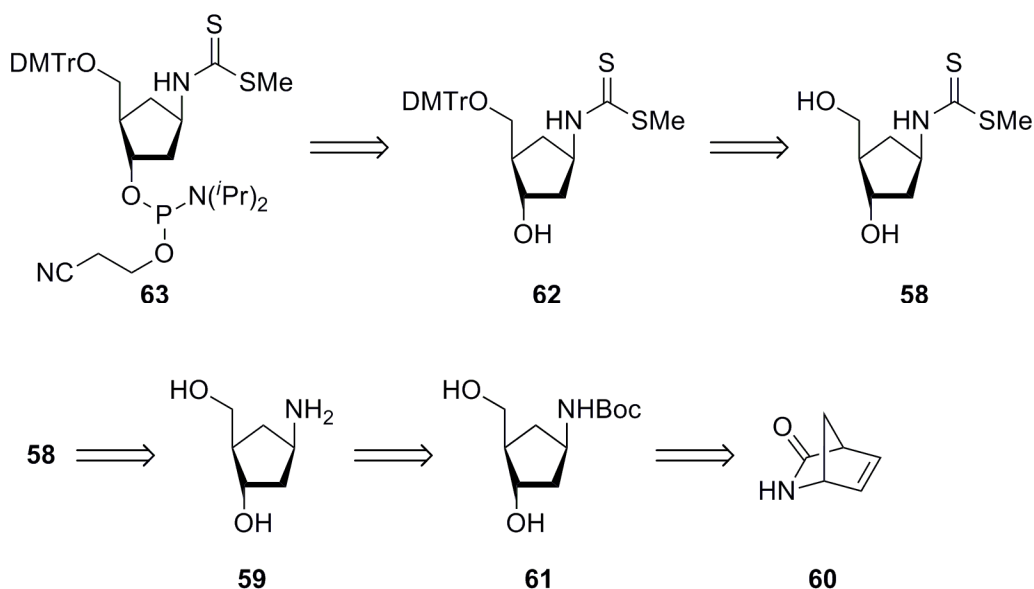


Abb. 49: Retrosynthetische Analyse des Phosphoramidits **63** für die DNA-Festphasensynthese.

Eine weitere Möglichkeit, das Phosphoramidit **63** zu erhalten, zeigt *Abb. 50*. Grundlegender Unterschied zur vorangegangenen Strategie ist die vorgezogene Einführung der DMTr-Gruppe in der 5'-Position des carbozyklischen Rückgrats. Das durch Entschützung von **61** mit Trifluoressigsäure erhaltene Amin **59**, das zunächst als TFA-Salz vorliegen sollte, kann anstelle der Reaktion zum *S*-Methyl-dithiocarbamat nach vorangegangener Behandlung mit Base (NEt_3) mit einer basenlabilen Schutzgruppe, z.B. Trifluoracetat, versehen werden und somit in Verbindung **64** überführt werden. Im Anschluss kann die DMTr-Gruppe eingeführt und die erhaltene in 5'-Position DMTr-geschützte Verbindung **65** zum freien Amin **66** umgesetzt werden. Im Anschluss könnte die Umsetzung zum 5'-DMTr-geschützten *S*-Methyl-dithiocarbamat **62** erfolgen, die analog den oben genannten Bedingungen durchgeführt werden kann. Im letzten Schritt sollte die Umsetzung zum Phosphoramidit **63** erfolgen.

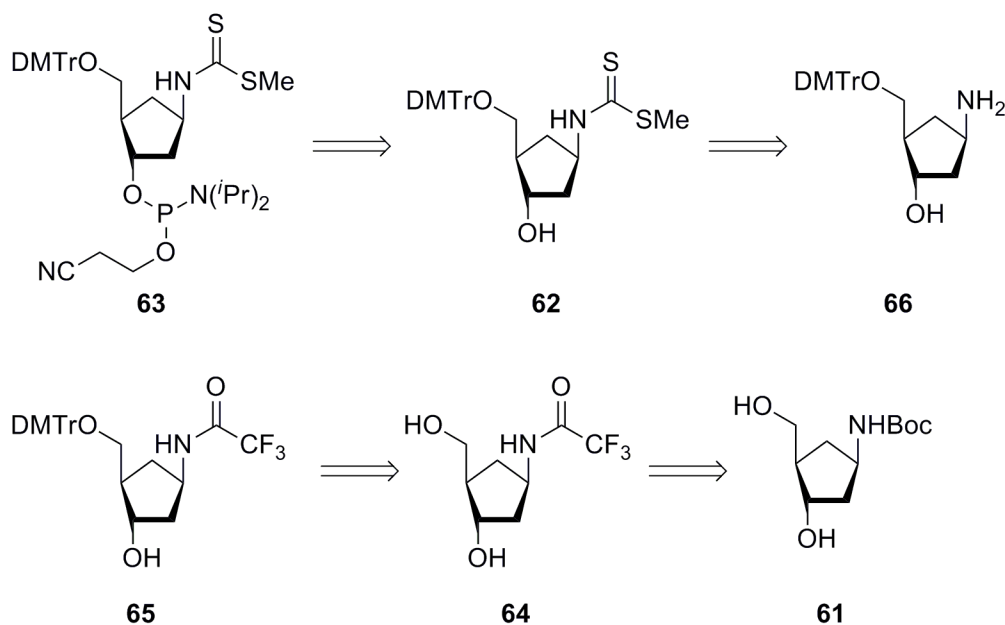


Abb. 50: Retrosynthetische Analyse des Phosphoramidits **63** für die DNA-Festphasensynthese mit geänderter Schutzgruppenchemie.

3.3.3 Synthese des Phosphoramidits **63** für die DNA-Synthese

3.3.3.1 Synthese des *S*-Methyl-dithiocarbamats **58**

Das Diol **58** ist eine wichtige Zwischenstufe. Es dient als Vorstufe zur Synthese des Phosphoramidits **63**, kann aber auch als Ligand für Komplexierungsstudien eingesetzt werden. Ferner wird diese Verbindung zur Bestimmung des Extinktionskoeffizienten im Rahmen der Konzentrationsbestimmung der modifizierten Oligonukleotide benötigt. Entsprechend der oben erläuterten, ersten Synthesestrategie konnte **58**, wie in Abb. 51 gezeigt ist, dargestellt werden.

Die fünfstufige Synthese des *N*-Boc-geschützten Cyclopentylamins **61** erfolgte in Anlehnung an *M. Ober*. Startmaterial war kommerziell erhältliches, enantiomerenreines (1*R*,4*S*)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on **60** das unter Verwendung von Boc₂O sowie katalytischen Mengen DMAP zunächst am Stickstoff geschützt wurde was zu Verbindung **67** führte.

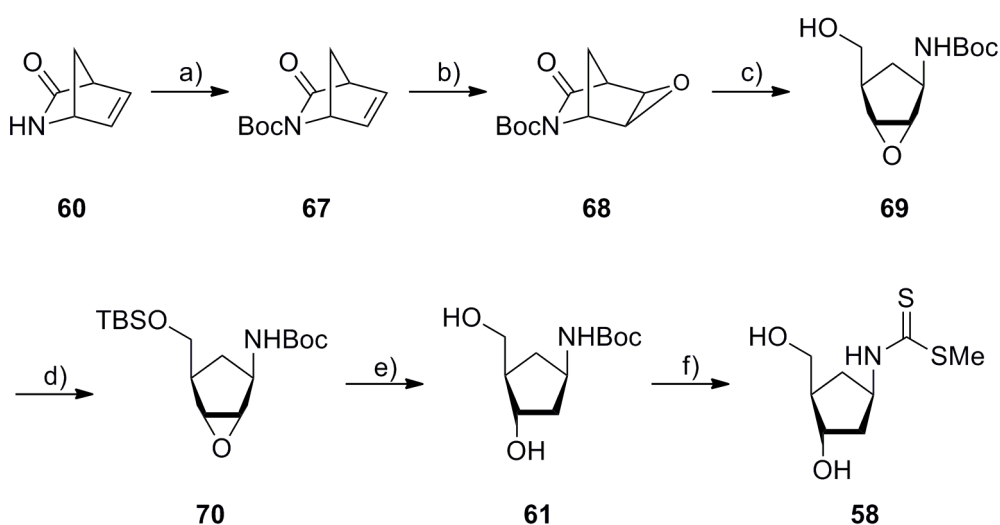


Abb. 51: Schematische Darstellung der Synthese des *S*-Methyl-dithiocarbamats **58**. Reaktionsbedingungen a) Boc₂O, DMAP, THF, RT, 3 h, 97%; b) *m*CPBA, CH₂Cl₂, RT, 22 h, 75%; c) NaBH₄, MeOH, 0 °C, 1 h, 90%; d) TBDMSCl, Imidazol, DMF, RT, 4 h, 86%; e) Red-Al, Toluol, RT, 3 h, 64%; f) H₂O, 100 °C, 12 h; dann 1-(Methyldithiocarbonyl)imidazol **72**, EtOH, 80 °C, 3 h, 65% (2 Stufen).

Anschließend Epoxidierung mit *m*CPBA lieferte nach 22stündigem Rühren bei Raumtemperatur das *exo*-Produkt **68**. Die etwas geringeren Ausbeuten von 75% können hierbei auf die mittels Extraktion erreichte, aufwendige Abtrennung des Produkts von überschüssigem

*m*CPBA sowie 3-Chlorbenzoesäure, das als Nebenprodukt gebildet wird, zurückgeführt werden. Durch Reaktion mit NaBH₄ in Methanol wurde Verbindung **70** erhalten, die durch nachfolgende Schützung des primären Alkohols mit TBSCl und Imidazol in DMF nach vierstündigem Rühren bei Raumtemperatur Verbindung **71** lieferte, welche nach säulenchromatographischer Aufreinigung stets in guten Ausbeuten erhalten wurde. Die Einführung der TBS-Gruppe stand mit der abschließenden Öffnung des Epoxids in direktem Zusammenhang, die unter Verwendung von Red-Al® in Toluol durchgeführt wurde. Durch die sperrige Schutzgruppe erfolgte eine Koordination des Aluminiums an den Carbonyl-Sauerstoff der Schutzgruppe am Stickstoff. Damit einhergehend erfolgt eine regioselektive Hydridübertragung, die zu dem sekundären Alkohol an der 3'-Position führt. Da bei der Öffnung des Epoxids auch die TBS-Schutzgruppe entfernt wurde, konnte Verbindung **61** nach Extraktion und mehrmaligem Waschen mit Isohexan in sehr reiner Form isoliert werden. Zur weiteren Umsetzung war eine Entschützung des Stickstoffs nötig, die thermisch erfolgte. Nach 12stündigem Rühren einer Suspension von **61** in entgastem Wasser wurde das freie Amin **59** erhalten, das sehr empfindlich gegenüber Sauerstoff ist und nach Trocknung *in vacuo* unmittelbar weiter zum *S*-Methyl-dithiocarbamat **58** umgesetzt wurde (Abb. 49). Diese Umsetzung erfolgte auf zweierlei Wegen. Einerseits konnte das *N*-Boc-geschützte Amin **61** in einer Eintopfreaktion durch Zugabe von TFA, NEt₃ und CS₂ zum Dithiocarbamatsalz **71** umgesetzt werden, das durch Verwendung von CH₃I unmittelbar im Anschluss am Schwefel methyliert wurde und somit **58** lieferte (Abb. 52, c und d). Es gelang aber auch die Synthese von *S*-Methyl-dithiocarbamat **58**, indem das Amin mit 1-(Methyldithiocarbonyl)-imidazol **72** umgesetzt wurde (Abb. 52, b).

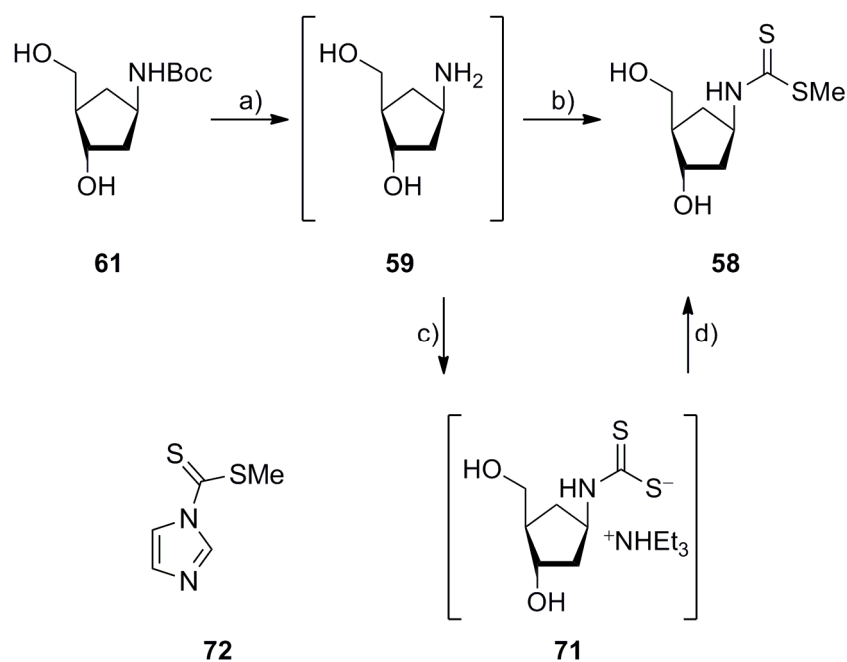


Abb. 52: Schlüsselschritt der Synthese des *S*-Methyl-dithiocarbamats **58**. Reaktionsbedingungen a) H₂O, 100 °C, 12 h; b) 1-(Methyldithiocarbonyl)imidazol **72**, EtOH, 80 °C, 3 h, 73% (2 Stufen); c) NEt₃, CS₂, EtOH, 0 °C → RT, RT, 90 min; d) CH₃I, H₂O, 0 °C → RT, RT, 3 d, 62%.

Obgleich beide Wege zum gewünschten Produkt **58** führten, ist die letztgenannte Variante zu bevorzugen. Dies liegt an der Tatsache, dass bei Verwendung von **72**, das kommerziell erhältlich ist, auf die sehr toxischen Reagenzien CS₂ und CH₃I, die zudem vorher zu entgasen sind, verzichtet werden kann. Darüberhinaus sind die Reaktionszeiten kürzer und die Ausbeuten höher. Das jedoch wichtigste Argument gegen die Synthesewege c) und d) ist dessen mangelhafte Reproduzierbarkeit. Im Gegensatz dazu führte ausnahmslos jede Umsetzung von **61** mit dem Transferreagenz **72**, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurde, zu Verbindung **58**.

¹³C-NMR-Spektren von Verbindung **58** in CDCl₃ zeigten zwei stark tieffeldverschobene Signale im Bereich um 200 ppm sowie zwei SCH₃-Signale, die bei höherem Feld bei etwa 20 ppm auftraten. Alle übrigen C-Atome traten ebenfalls doppelt auf. Dies ist erklärbar durch das Vorliegen zweier Rotamere (Abb. 53). Die am Schwefel gebundene Methylgruppe kann *cis* oder *trans* zur Thiocarbonylgruppe angeordnet sein.

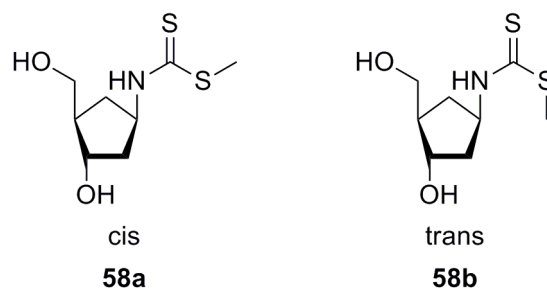


Abb. 53: Rotamere des Liganden **58**.

Studien von *Devi*¹⁴³ zum Konformationsverhalten sekundärer Dithioester zeigten, dass in Lösung überwiegend das *cis*-Konformer vorliegt, wie dies auch bei Thiocarbonaten¹⁴⁴ sowie sekundären Carbamaten¹⁴⁵ der Fall ist. Auch primäre *O*-Methyl-Thiocarbamate¹⁴⁶ und *S*-Methyl-carbamate¹⁴⁷ liegen in Lösung bevorzugt in der *cis*-Form vor. Ursache dafür kann eine sterische Hinderung der *trans* angeordneten Methylgruppe sein. Denkbar ist auch eine auftretende Stabilisierung, die durch intermolekulare S-H-N-Wasserstoff Brückenbindungen hervorgerufen wird. Im festen Zustand wird bei den genannten Verbindungsklassen hingegen die *trans*-Form gefunden. Primäre Dithioester liegen in Lösung ebenfalls bevorzugt in der *trans*-Form vor, was auf günstige Dipolwechselwirkungen zurückgeführt wird. Ferner kommt es aufgrund ungünstiger Wechselwirkungen der freien Elektronenpaare sowohl vom Stickstoff als auch vom Methyl-gebundenen Schwefel zu einer Destabilisierung der *cis*-Form.¹⁴⁸

Durch temperaturabhängige ¹H-NMR-Experimente (Abb. 54) konnten durch Integration der jeweiligen Signale der SCH₃-Protonen, welche im Bereich 2.50-2.60 ppm auftraten, die Verhältnisse beider Isomere bei verschiedenen Temperaturen ermittelt werden. Eine einheitliche Änderung konnte dabei nicht beobachtet werden, die *cis/trans* Verhältnisse betrugen etwa 1:3. Lediglich bei –40 °C (Spektrum 1) wurden Verhältnisse von etwa 1:2 gefunden. Bei +40 °C (Spektrum 9) konnten keine Verhältnisse mehr bestimmt werden, die Signale koaleszierten. Die Rotationsbarriere beträgt bei 313.1 K 66.1 kJ/mol (15.8 kcal/mol). Die Rotationsbarriere um die Thioamid-Bindung konnte nicht bestimmt werden, da auch bei 313.1 K keine Koaleszenz der NH-Protonen beobachtet werden konnte.

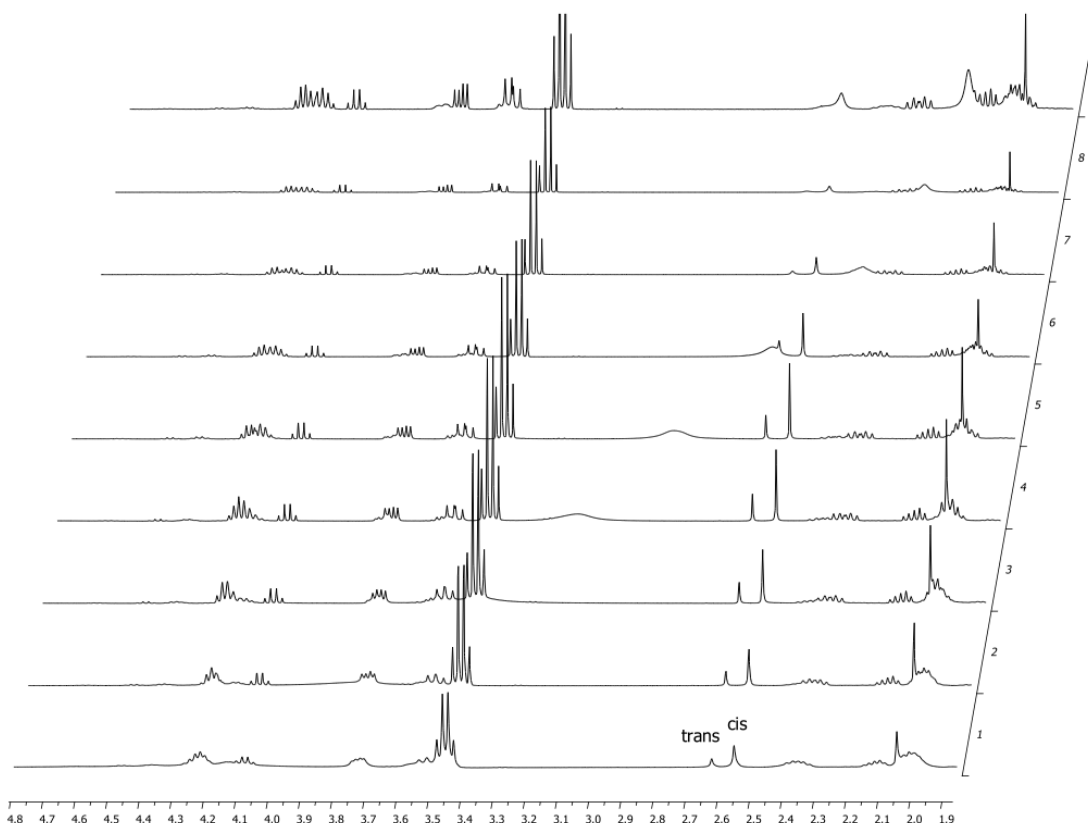


Abb. 54: Temperaturabhängige ^1H -NMR Experimente ($-40\text{ }^\circ\text{C}$ bis $+40\text{ }^\circ\text{C}$, 400 MHz, CDCl_3) zur Bestimmung der jeweiligen *cis/trans* Verhältnisse des Liganden **58**. Spektrum 1 wurde bei $-40\text{ }^\circ\text{C}$ aufgenommen, Spektrum 9 bei $+40\text{ }^\circ\text{C}$.

3.3.3.2 Synthese des Phosphoramidits **63**

Zur Synthese des Phosphoramidits **63** waren, wie in Abb. 55 gezeigt, zwei weitere Schritte nötig. Ausgehend vom Diol **58** erfolgte zunächst die Einführung der DMTr-Schutzgruppe an der 5'-Position, die zu Verbindung **62** führte. Dies geschah durch Umsetzung mit einem geringen Überschuss von 1.1 eq an DMTrCl in Pyridin. Reaktionszeiten von 2 Stunden haben sich hierbei als durchaus ausreichend erwiesen. Der letzte Schritt der neunstufigen Synthese konnte unter Verwendung von Hünig-Basis sowie CEDCl in CH_2Cl_2 erfolgreich durchgeführt werden. Verbindung **63**, die für die DNA-Synthese benötigt wurde, wurde nach 45minütigem Rühren bei Raumtemperatur, gefolgt von der Aufreinigung durch Abtrennen der Verunreinigungen durch Fällung mit EtOAc und Filtration über eine GHP-Membran in Ausbeuten um die 50% erhalten.

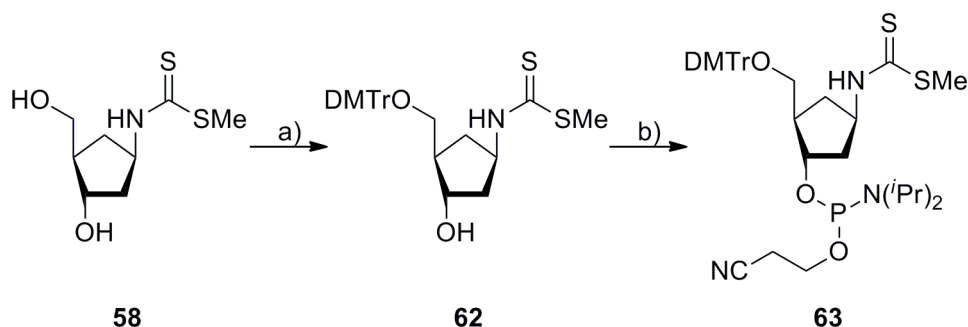


Abb. 55: Synthese des Phosphoramidits **63**. Reaktionsbedingungen: a) DMTrCl, Pyridin, RT, 2 h, 70%; b) CEDCl, Hünig-Base, CH₂Cl₂, RT, 45 min, 52%.

3.3.3.3 Alternative Syntheseroute zu **62**

Im Rahmen dieser Arbeit konnte – wie bei den retrosynthetischen Überlegungen aufgeführt – eine zusätzliche Synthesevariante ausgearbeitet werden (Abb. 56), um zu Verbindung **62**, der Vorstufe des Phosphoramidit **63**, zu gelangen.

Ausgehend vom Diol **61** erfolgte zunächst die Entfernung der *N*-Boc-Schutzgruppe mit TFA in Wasser, unmittelbar gefolgt von der Einführung einer basenlabilen Schutzgruppe. Dieses wurde durch Zugabe eines hohen Überschusses an NEt₃ und Trifluoressigsäureethylester erreicht. Mit der *N*-Trifluoracetat-geschützten Verbindung **64** wurde sichergestellt, dass ein freies Amin erzeugt werden kann, ohne dass die DMTr-Schutzgruppe entfernt wird. **64** wurde durch Veretherung der 5'-Position mit DMTrCl in Pyridin zu **65** umgesetzt. Diese Verbindung konnte nach säulenchromatographischer Aufreinigung in einer Ausbeute von 41% über drei Stufen erhalten werden. Im Anschluss erfolgte die Entfernung der Amino-Schutzgruppe mit NaOH in einem Lösemittelgemisch aus H₂O und EtOH zu **66** und – aufgrund vermuteter hoher Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff – unmittelbare Umsetzung mit NEt₃ und CS₂ zu dem entsprechenden Ditiocarbamatsalz, gefolgt von *S*-Methylierung mit CH₃I zum *S*-Methyldithiocarbamat **62**. Auf diese Weise konnte die Verbindung **62** nach Säulenchromatographie mit einer Ausbeute von 33% über drei Stufen isoliert werden.

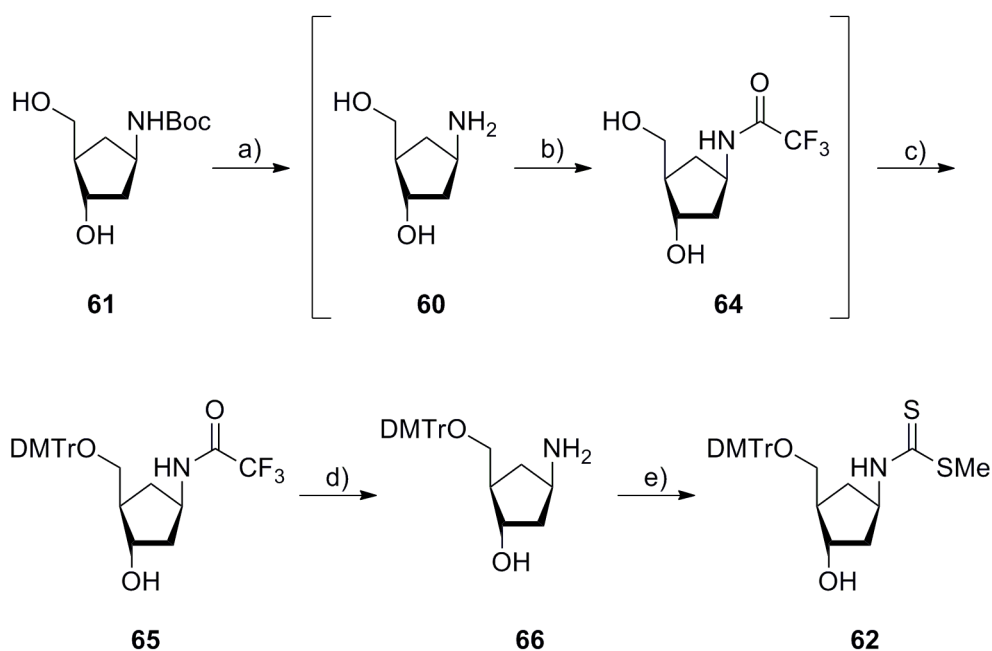


Abb. 56: Syntheschema für Verbindung **62**. Reaktionsbedingungen: a) TFA (95% in H₂O), RT, 30 min; b) NEt₃, TFAOEt, DMF, RT, 22 h; c) DMTrCl, Pyridin, RT, 3 h, 41% (3 Stufen); d) NaOH (1 N in H₂O/EtOH), RT, 12 h; e) NEt₃, CS₂, RT, 90 min; dann CH₃I, H₂O, RT, 20 h, 33% (3 Stufen).

Hier ist jedoch zu erwähnen, dass diese Syntheseroute nur einmal durchgeführt wurde und somit weder optimiert noch auf deren Reproduzierbarkeit hin gründlich untersucht wurde. Die Umsetzung zum Phosphoramidit **63** wurde nicht mehr durchgeführt.

Interessant ist die Tatsache, dass das 5'-DMTr-geschützte freie Amin **66**, das als gelber Feststoff isoliert werden konnte, gegenüber Sauerstoff sehr stabil ist und sich auch nach mehreren Monaten an der Luft nicht zersetzt. Dies kann in Überlegungen bezüglich künftiger Synthesestrategien, die carbozyklische Nukleoside betreffen, miteinbezogen werden.

3.3.4 Komplexierungsverhalten des *S*-Methyl-dithiocarbamats **58**

Das *S*-Methyl-dithiocarbamat **58** wurde im Rahmen dieser Arbeit näher auf dessen Verhalten gegenüber verschiedenen weichen Metallionen untersucht. Von besonderem Interesse war hierbei, ob Komplexierungen unter DNA-kompatiblen Bedingungen, das heisst in Wasser sowie in wässrigem Medium durchgeführt werden können. Ferner wurde untersucht, ob sich die erhaltenen Komplexverbindungen auch mit DNA-kompatiblen Analysemethoden – insbesondere UV/Vis-Spektroskopie sowie ESI-MS – nachweisen lassen.

3.3.4.1 Verhalten gegenüber Ag^+ -Ionen

Erste Titrationsexperimente wurden mit Ag^+ -Ionen (Abb. 57) durchgeführt. Dazu wurden Lösungen von **58** in Wasser (0.1 mM) mit wässrigen AgNO_3 -Lösungen (0.01 M) in Schritten von 0.1 eq ($\text{Ag}^+/\text{58}$) versetzt. Die erhaltenen UV/Vis-Spektren zeigten bereits nach Zugabe von 0.1 eq Ag^+ stets eine Abnahme der Absorption des freien Liganden bei 270 nm. Es wurde das Auftreten einer Schulter bei 400 nm beobachtet, einhergehend mit einer hypsochromen Verschiebung nach 250 nm. Die erhaltenen UV/Vis-Spektren zeigten jedoch nicht die Bildung einer 1:2 Spezies vom Typs $[\text{Ag}(\text{MDTC})_2]^+$ **73**, wie erwartet wurde.

Aus diesem Grund wurde die Komplexverbindung **73** durch Zusammengeben von Ligand **58** und AgNO_3 im Verhältnis 2:1 synthetisiert und näher untersucht. Die Synthese gelang sowohl in Wasser als auch in Ethanol. Es bildete sich unmittelbar nach Zugabe von AgNO_3 zu **58** ein schwarzes Präzipitat, das abzentrifugiert, mehrmals mit Ethanol und Ether gewaschen und unter Ausschluß von Licht *in vacuo* getrocknet wurde. Zur genaueren Bestimmung der Bindungsverhältnisse in **73**, die nach der Methode von Bonati und Ugo¹⁴⁹ erfolgte, wurden IR-Spektren aufgenommen (Abb. 58).

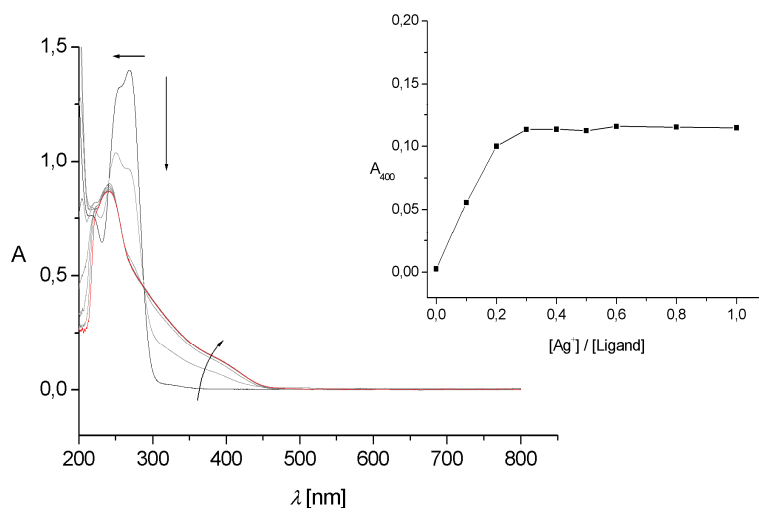


Abb. 57: Titration von **58** (0.1 mM in Wasser) mit Ag^+ in Schritten von 0.1 eq. Inset: Auftragung der Absorption bei 400 nm gegen die Äquivalente an Ag^+ .

Während die Schwingungsbanden im Bereich von 2000 bis 4000 cm^{-1} nach der Komplexbildung unverändert blieben, wurden geringfügige Änderungen im Bereich 1500 cm^{-1} beobachtet. Die Schwingung der komplexierten Verbindung (1530 cm^{-1}) ist im Gegensatz zum Liganden (1510 cm^{-1}) zu etwas höherer Energie verschoben. In dem IR-Spektrum ist ferner eine ausschließlich in der komplexierten Verbindung auftretende Schwingung bei 1620 cm^{-1} erkennbar, die dem als Gegenion vorliegenden NO_3^- Anion zugeordnet werden kann.

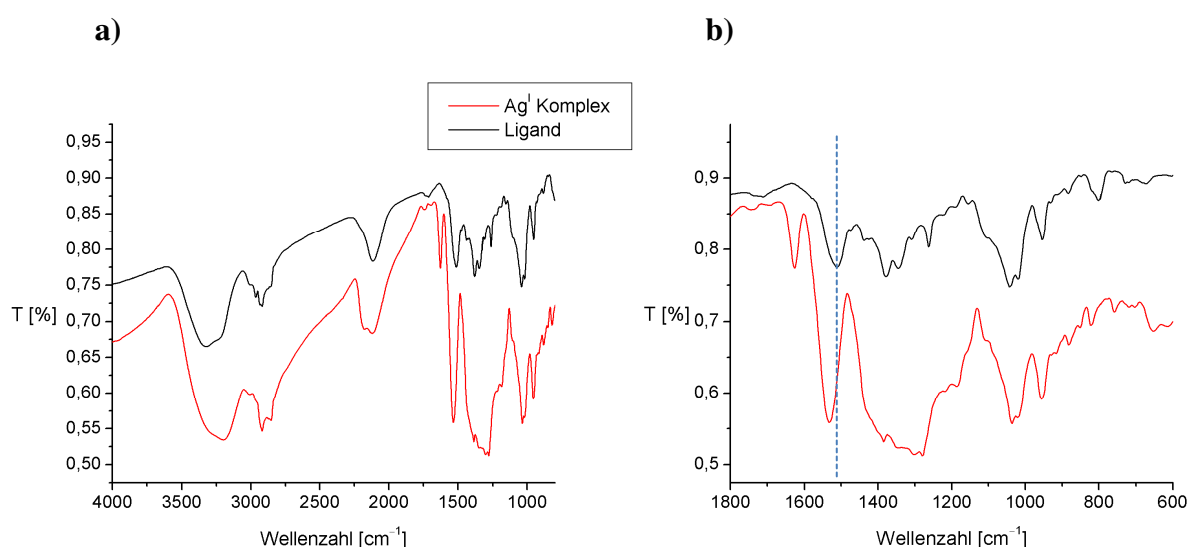


Abb. 58: IR-Spektren (ATR) von **58** vor und nach Umsetzung mit AgNO_3 . a) Wellenzahlenbereich 4000 bis 800 cm^{-1} ; b) Wellenzahlenbereich 1800 bis 600 cm^{-1} .

Diese – in der Literatur bekannte Verschiebung schwefelhaltiger Komplexverbindungen – ist auf die Koordination von Silber am Schwefel und der damit verbundenen Erhöhung des C-N-Doppelbindungscharakters, entsprechend der in Abb. 59 gezeigten Resonanzform **58c**, zurückzuführen.

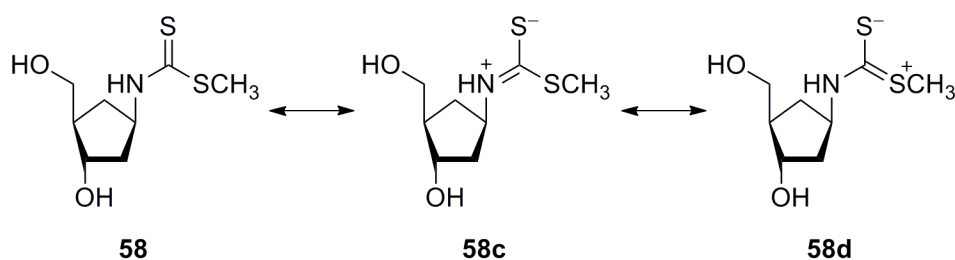


Abb. 59: Resonanzformen des Ligandosids **58**.

Untersuchungen des Koordinationsverhaltens des Liganden gegenüber Ag^+ -Ionen wurden ferner mittels ^1H -NMR-Spektroskopie in D_2O durchgeführt. Durch schrittweise Zugabe von AgNO_3 und unmittelbarer Messung konnte das in *Abb. 60* gezeigte Spektrum erhalten werden.

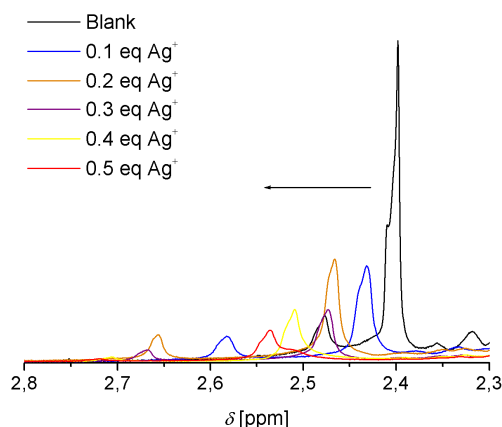


Abb. 60: ^1H NMR (200 MHz) spektroskopische Untersuchung der Titration von **58** in D_2O mit Ag^+ in Schritten von 0.1 eq.

Es wurde eine deutliche Tieffeldverschiebung der SCH_3 -Signale beobachtet, die auf eine durch Koordination von Ag^+ verursachte Erhöhung der Elektronendichte am Thiocarbonyl gebundenen Schwefel zurückzuführen ist. Die erhaltenen Daten lassen auf die Bildung eines im Einklang mit der d^{10} -Konfiguration von Ag^+ stehenden, linear gebundenen $[\text{Ag}(\text{MDTC})_2]^+$ Komplexes **73** schließen, dessen Struktur in *Abb. 61* dargestellt ist.

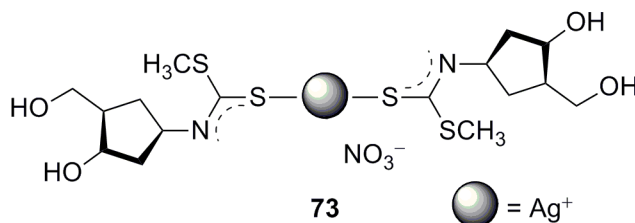


Abb. 61: Strukturvorschlag des entstehenden $[\text{Ag}(\text{MDTC})_2]^+$ **73** Komplexes durch Umsetzung von **58** mit Ag^+ im Verhältnis 2:1.

Anhand von hochaufgelösten ESI-MS-Daten (positiver Modus) wird dies zusätzlich bekräftigt. Die in *Abb. 62* gezeigten Spektren zeigten praktisch ausschließlich die Bildung des

[Ag(MDTC)₂]⁺ Komplexes **73**, dessen Masse sowie Isotopenverteilung nahezu perfekt mit dem theoretischen Wert übereinstimmt.

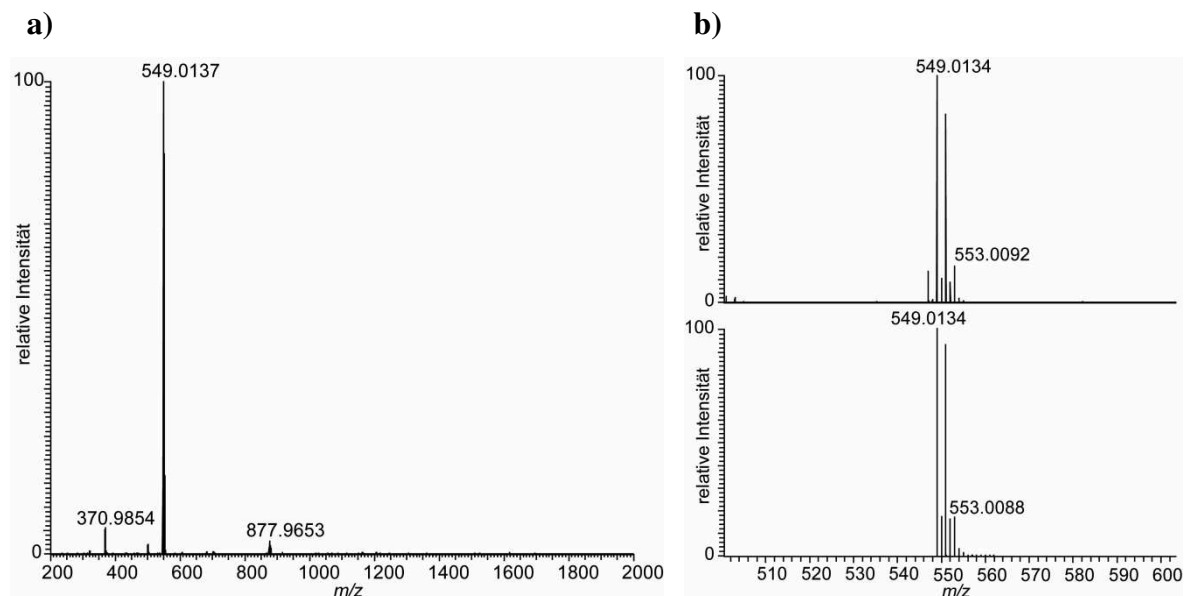


Abb. 62: a) Gesamtes HR ESI-MS-Spektrum des vorgeschlagenen [Ag(MDTC)₂]⁺ Komplexes **73**. b) Berechnete Massen und Isotopenverteilungen (unten) sowie gefundene Werte (oben).

3.3.4.2 Verhalten gegenüber Pd²⁺-Ionen

Titrationen von **58** mit Pd²⁺-Ionen in Wasser sowie wässrigem gepuffertem Medium wurden mit K₂[PdCl₄] unter den gleichen Bedingungen wie mit Ag⁺-Ionen durchgeführt.

Das UV/Vis-Spektrum (Abb. 63) zeigte, dass eine unmittelbare und ausschließliche Bildung einer 1:2 Spezies stattfand, wie anhand des isosbestischen Punktes bei etwa 290 nm erkennbar ist. Intermediate traten nicht auf. Neben der kontinuierlichen Abnahme der Absorption bei 270 nm konnte eine bathochrome Verschiebung nach 385 nm beobachtet werden.

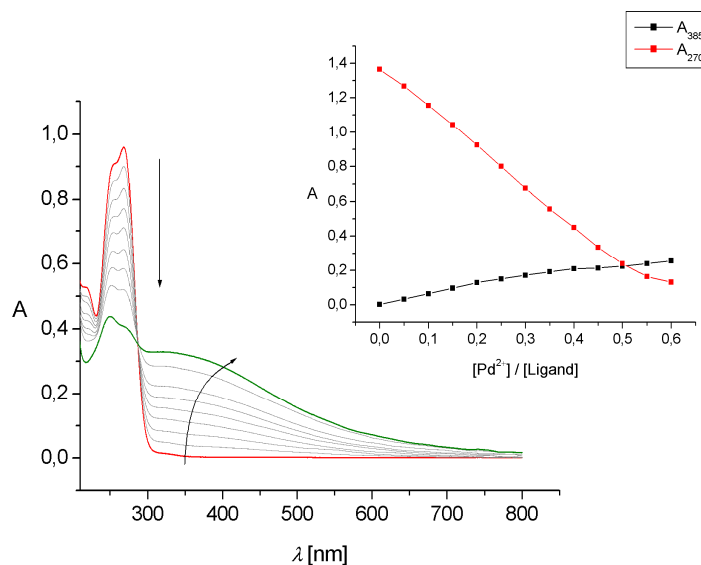


Abb. 63: Titration von **58** (0.1 mM in Wasser) mit Pd^{2+} in Schritten von 0.1 eq. Inset: Auftragung der Absorptionen bei 270 nm sowie 385 nm gegen die Äquivalente an Pd^{2+} .

^1H -NMR-spektroskopische Untersuchungen in D_2O (Abb. 64) zeigten, dass wie erwartet eine Tieffeldverschiebung der SCH_3 -Protonen als Folge der Komplexbildung von Pd^{2+} auftrat. Bereits die Zugabe von 0.2 eq Pd^{2+} führte jedoch zu einer deutlichen Abnahme des Signals der SCH_3 -Gruppe und nach weiterer Zugabe verschwand das Signal vollständig.

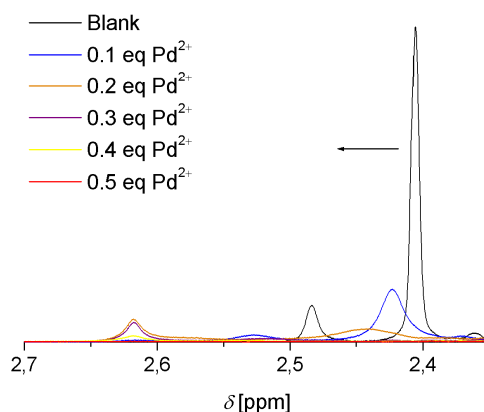


Abb. 64: ^1H -NMR (200 MHz) spektroskopische Untersuchung der Titration von **58** in D_2O mit Pd^{2+} in Schritten von 0.1 eq.

Dies kann mit der durch Demethylierung bedingten Bildung eines neutralen $[\text{Pd}(\text{DTC})_2]$ Komplexes **74** erklärt werden, woraus die Schlussfolgerung gezogen werden kann, dass der *S*-Methyl-dithiocarbamat-Ligand **58** nicht nur zur linearen Komplexierung von d^{10} -konfigurierten Kationen eingesetzt werden kann, sondern zusätzlich eine Vorstufe für quadratisch-planare Komplexverbindungen mit Metallionen ist, die eine d^8 -Konfiguration aufweisen.

Demethylierungen von Dithioestern unter Bildung von Dithiocarbamat-Komplexen in Gegenwart von Pd^{2+} - und Pt^{2+} -Salzen wurden von *Faraglia* beschrieben.¹¹² Ein möglicher Mechanismus ist in *Abb. 65* dargestellt. Koordination des Metallions führt demnach zu einer Erhöhung der Elektronendichte an den Schwefelatomen, in deren Folge die $\text{S}-\text{CH}_3$ -Bindung geschwächt und ein nukleophiler Angriff von Cl^- -Ionen erleichtert wird. Neben der Bildung des DTC Komplexes **74** entsteht Methylchlorid.

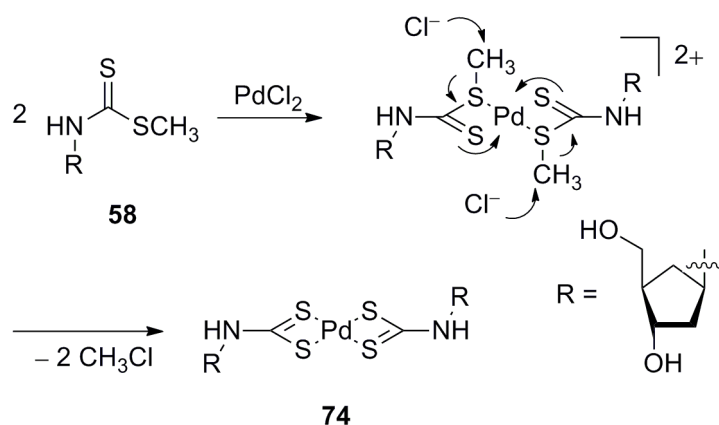


Abb. 65: Denkbare Mechanismus der Bildung eines neutralen $\text{Pd}(\text{DTC})_2$ Komplexes **74** durch Demethylierung von **58** in Gegenwart von PdCl_2 .

Zur Aufnahme von IR-Spektren wurde eine wässrige Lösung von **63** (2 eq) tropfenweise mit einer Lösung von $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ in Wasser (1 eq) versetzt, wobei unmittelbar nach Zugabe ein oranger Feststoff präzipitierte. Dieser wurde nach Zentrifugieren mehrfach mit Wasser, Ethanol und Ether gewaschen und *in vacuo* getrocknet. Die gemessenen Spektren zeigten unveränderte Schwingungen im Wellenzahlenbereich von 4000 bis 2000 cm^{-1} und schliessen somit eine Koordination am Stickstoff sowie der OH-Gruppen aus. Eine nähere Betrachtung des Wellenzahlenbereichs um 1500 cm^{-1} (*Abb. 66b*) zeigte im Vergleich zum freien Liganden **58** eine durch Komplexierung von Pd^{2+} bedingte Verschiebung in der Komplexverbindung von

1510 cm^{-1} nach 1530 cm^{-1} . Dies zeigt einerseits, dass zwar eine Koordination am Schwefel in Analogie zur Ag^{I} -Komplexverbindung **73** erfolgt, doch wurden andererseits in DTC-Komplexen von Pd^{2+} deutlich höhere Verschiebungen der Wellenzahlen nach Komplexbildung festgestellt.¹¹²

Ferner zeigten ESI-MS-Messungen sowohl des Feststoffs als auch der für die UV/Vis eingesetzten Lösungen nicht die Bildung eines $[\text{Pd}(\text{DTC})_2]$ Komplexes **74**. Es konnten auch keine alternativen Pd^{II} -Komplexverbindungen identifiziert werden.

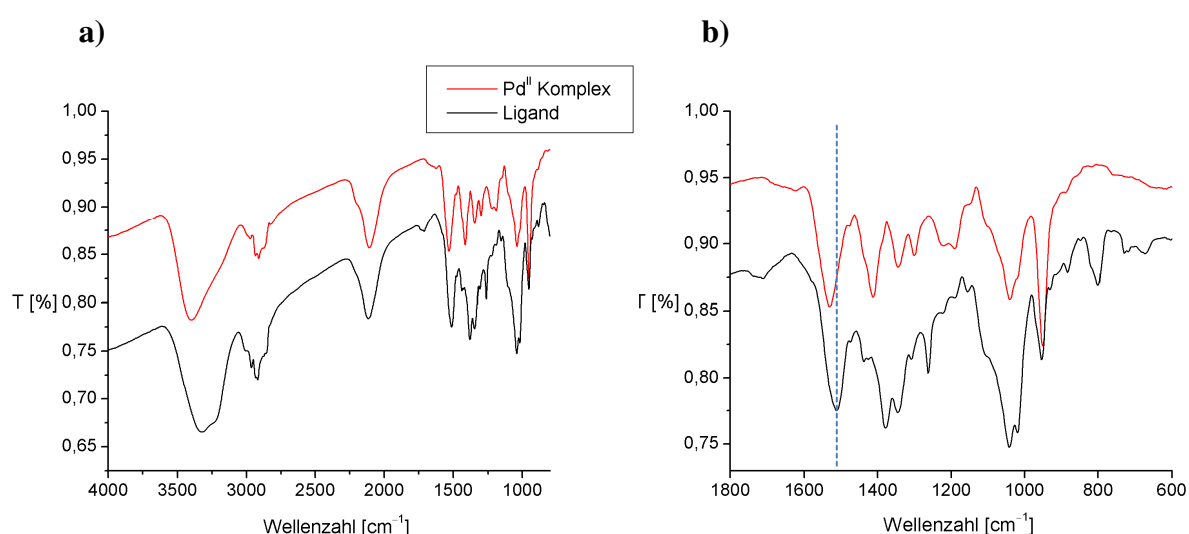


Abb. 66: IR-Spektren (ATR) von **58** vor und nach Umsetzung mit $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$. a) Wellenzahlenbereich 4000 bis 800 cm^{-1} ; b) Wellenzahlenbereich 1800 bis 600 cm^{-1} .

Aus diesem Grund wurden die literaturbekannten¹⁵⁰ Komplexverbindungen **75** und **76** (Abb. 67) ausgehend von dem kommerziell erhältlichen und strukturell ähnlichen DTC-Ligand **77** synthetisiert und deren Verhalten unter ESI-MS-Bedingungen getestet. Die neutrale Verbindung $[\text{Pd}(\text{DTC})_2]$ **76** konnte sowohl im negativen als auch im positiven Modus eindeutig identifiziert werden (ohne Abb.; ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{PdS}_4]^+$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 428.9622, gef. 428.9621; ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{PdS}_4]^-$ ($[\text{M}-\text{H}]^-$) 426.9475, gef. 426.9467). Die entsprechende einfach positiv geladene Au^{III} -Verbindung $[\text{Au}(\text{DTC})_2]^+$ **75** konnte erwartungsgemäß im positiven Modus, aber auch im negativen Modus identifiziert werden (ohne Abb.; ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{AuS}_4]^+$ ($[\text{M}]^+$) 517.0169, gef. 517.0169; ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{AuS}_4]^-$ ($[\text{M}-2\text{H}]^-$) 515.0018, gef. 515.0009).

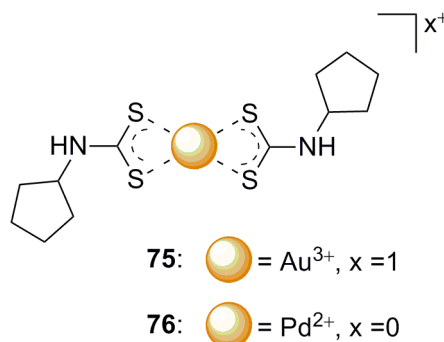


Abb. 67: Synthetisierte $[M(DTC)_2]^{x+}$ Komplexe **75** und **76** für die Überprüfung derer Verhalten unter ESI-MS Bedingungen.

Somit kann festgehalten werden, dass in wässrigen Lösungen des *S*-Methyl-dithiocarbamat-Liganden **58** in Gegenwart von Pd²⁺ eine 2:1-Komplexverbindung entsteht, die jedoch nicht mittels ESI-MS nachgewiesen werden konnte. ¹H-NMR-Experimente in Lösung zeigten Demethylierungen, weshalb von der Bildung eines DTC-Komplexes ausgegangen werden kann. Gegen die Bildung des DTC-Komplexes sprechen jedoch die IR- sowie ESI-MS-Daten, die vom Feststoff erhalten wurden.

Als möglicher Grund, warum ein möglicherweise in Lösung doch entstandener Pd^{II}-DTC-Komplex **74** mittels ESI-MS nicht detektiert werden konnte, kann dessen Schwerlöslichkeit in sämtlichen Lösemitteln einschließlich Wasser in Betracht gezogen werden. Es spricht ferner einiges dafür, dass die Umsetzung von **58** mit K₂[PdCl₄] zu komplexen Reaktionsmischungen führt, bei denen zusätzlich beispielsweise teils nicht demethylierte Verbindungen, polymere Verbindungen oder Verbindungen mit anderen Stöchiometrien, beispielsweise MLX₂, ML₃X₂, [ML₄]X₂ sowie verbrückte Dimere des Typs [MLX]₂ vorliegen.¹¹² Mehrkernige Komplexverbindungen mit Ni²⁺ und Cu⁺ wurden auch von *Mattes* beschrieben.¹¹¹

3.3.4.3 Verhalten gegenüber Au³⁺- und Au⁺-Ionen

Titrationen von **58** mit K[AuCl₄] in Wasser wurden unter den gleichen Bedingungen wie die Experimente mit Ag⁺ sowie Pd²⁺ durchgeführt. Anhand des erhaltenen UV/Vis-Spektrums (Abb. 68) konnte ebenfalls die unmittelbare Entstehung einer 1:2 Spezies beobachtet werden. Der isosbestische Punkt lag ebenfalls im Bereich um 290 nm. Mit kontinuierlicher Zugabe

von Au^{3+} -Ionen verschwand die Absorption des freien Liganden bei 270 nm und es trat eine bathochrome Verschiebung nach etwa 350 nm auf.

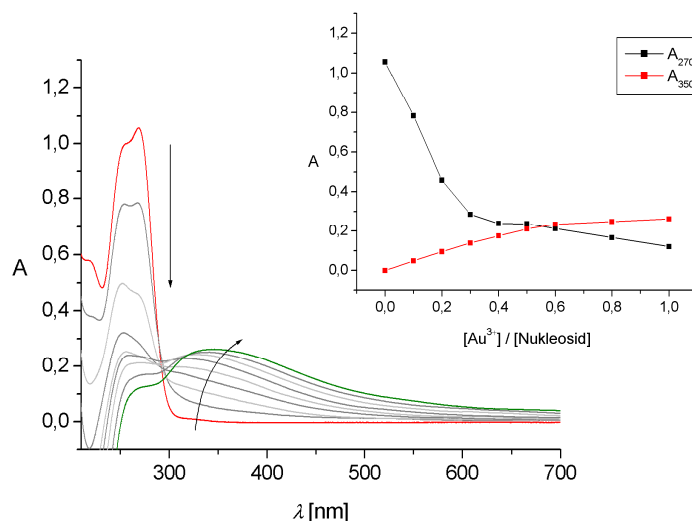


Abb. 68: Titration von **58** (0.1 mM in Wasser) mit Au^{3+} in Schritten von 0.1 eq. Inset: Auftragung der Absorptionen bei 270 nm sowie 350 nm gegen die Äquivalente an Au^{3+} .

Durchgeführte ^1H -NMR Experimente in D_2O (Abb. 69) zeigten ebenfalls auftretende Demethylierungen.

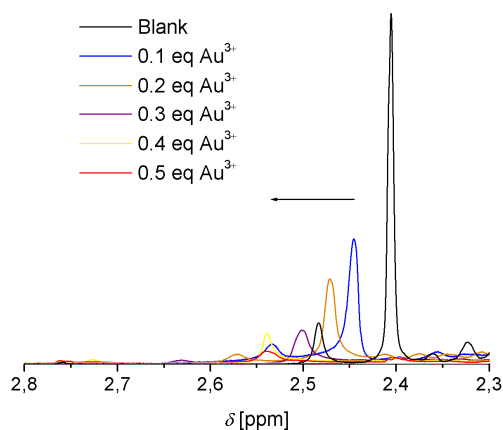


Abb. 69: ^1H -NMR (200 MHz) spektroskopische Untersuchung der Titration von **58** in D_2O mit Au^{3+} in Schritten von 0.1 eq.

Die zur Aufnahme von IR-Spektren benötigte Komplexverbindung wurde durch Vereinen wässriger oder ethanolischer Lösungen von **58** und $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ im Verhältnis 2:1 unmittelbar

als braunes Präzipitat erhalten, das aufgrund guter Löslichkeit sowohl in Wasser als auch in Ethanol nur mit Ether gewaschen und *in vacuo* getrocknet wurde. Die erhaltenen Spektren (Abb. 70) zeigten dieselben charakteristischen Änderungen der Komplexverbindung gegenüber dem Liganden, die bereits im Fall von $[\text{Ag}(\text{MDTC})_2]^+$ **73** sowie den Umsetzungen mit $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ beschrieben wurden.

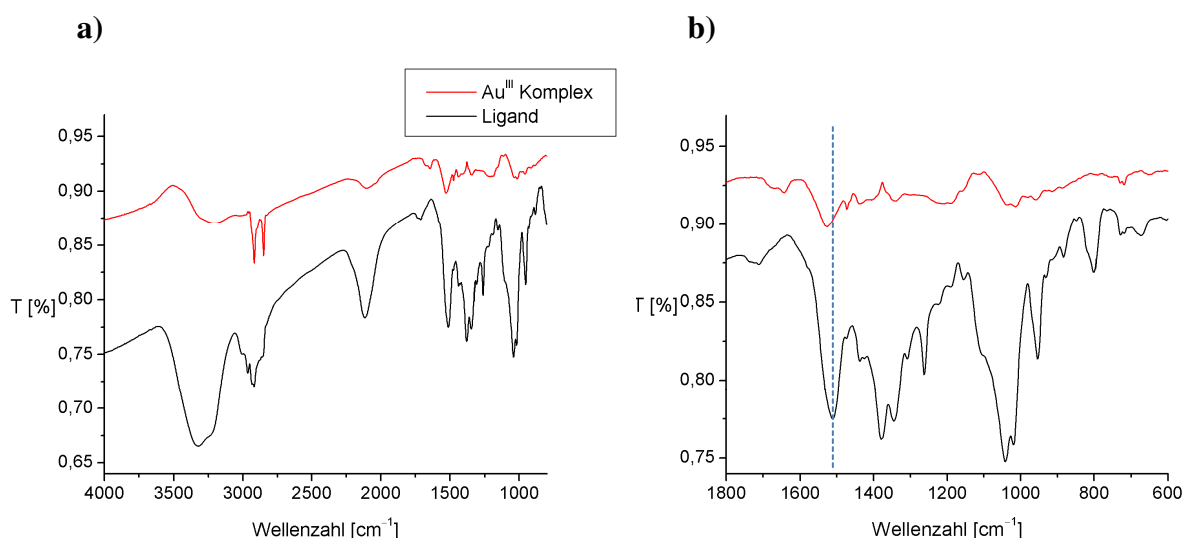


Abb. 70: IR-Spektren (ATR) von **58** vor und nach Umsetzung mit $\text{K}[\text{AuCl}_4]$. a) Wellenzahlenbereich 4000 bis 800 cm^{-1} ; b) Wellenzahlenbereich 1800 bis 600 cm^{-1} .

Wenngleich die Veränderungen im IR-Spektrum nicht im Einklang mit Literaturdaten bezüglich DTC-Komplexe sind, so konnte im Einklang mit der d^8 -Konfiguration von Au^{3+} die Bildung eines einfach positiv geladenen $[\text{Au}(\text{DTC})_2]^+$ Komplexes **78** mittels ESI-MS (positiver Modus) nachgewiesen werden (ber. für $[\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{AuN}_2\text{O}_4\text{S}_4]^+$ $[M]^+$ 609.0284, gef. 609.0280). Eine Reduktion von Au^{III} zu Au^{I} , verbunden mit der Entstehung verschiedener Nebenprodukte, beispielsweise Au^{I} -Komplexe, entschwefelte Produkte oder Disulfide konnten mittels ESI-MS hingegen nicht nachgewiesen werden. Ein Strukturvorschlag der Komplexverbindung **78** ist in Abb. 71 dargestellt.

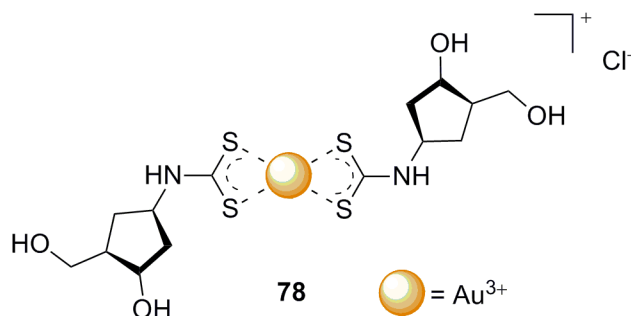


Abb. 71: Strukturvorschlag des entstehenden $[\text{Au}(\text{DTC})_2]^+$ Komplexes **78** durch Umsetzung von **58** mit Au^{3+} -Ionen im Verhältnis 1:2.

Neben den Umsetzungen mit Au^{3+} -Ionen wurde auch das Verhalten des Liganden **58** gegenüber Au^+ -Ionen untersucht. Da diese Experimente in Anlehnung an die von *Mattes* beschriebene Darstellung von Au^{I} -*S*-Methyl-dithiocarbamat-Komplexe durch vorangehende Reduktion von Au^{3+} zu Au^+ unter Verwendung von Bis-(2-hydroxyethyl)sulfid nicht in Wasser, sondern in Aceton erfolgten, wurden keine UV/Vis-Spektren aufgenommen.

Zur Darstellung der Komplexverbindung wurde $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ zunächst wie beschrieben¹¹⁰ reduziert und unmittelbar mit einer Lösung von **58** in Aceton versetzt. Es trat ein sofortiger Farbumschlag von Gelb nach Orange auf, der ein Indiz für eine Komplexierung ist. Innerhalb weniger Minuten änderte sich jedoch die Farbe wieder nach Gelb. Dies geschah unabhängig davon, ob unter sauerstofffreien Bedingungen gearbeitet wurde oder nicht. *Mattes*¹¹⁰ berichtete in diesem Zusammenhang von der Bildung entsprechender Einkristalle unter sauerstofffreien Bedingungen. ESI-MS-Messungen, die mit dem ungereinigten Reaktionsgemisch durchgeführt wurden, erbrachten jedoch keinen Nachweis der erfolgreichen Bildung eines zu erwartenden d^{10} -konfigurierten und damit linearen $[\text{Au}(\text{MDTC})_2]^+$ Komplex **79**. Dies ist möglicherweise auf eine zu geringe Stabilität in Lösung zurückzuführen.

3.3.5 Synthese von *S*-Methyl-dithiocarbamatmodifizierten Oligonukleotiden

3.3.5.1 Voruntersuchungen

Neben dem Erfordernis, dass der *S*-Methyl-dithiocarbamat-Ligand zur Bildung von Koordinationsverbindungen in wässrigem Medium befähigt ist, ist es gleichermaßen von Bedeutung, dessen Stabilität gegenüber DNA-Synthesebedingungen zu überprüfen und – falls erforderlich – letztere zu variieren. Zu diesem Zweck wurde ein strukturell ähnliches, offenkettiges *S*-Methyl-dithiocarbamat **80** synthetisiert und dessen Verhalten gegenüber verschiedenen Chemikalien, die in der DNA-Synthese eingesetzt werden, mittels HPLC untersucht. Die Synthese von **80** ist schematisch in Abb. 72 dargestellt.

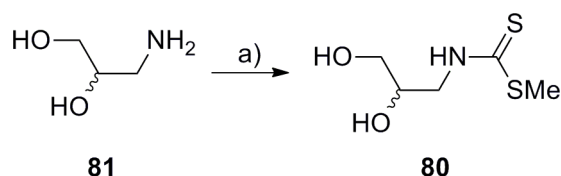


Abb. 72: Syntheschema für Verbindung **80**. Reaktionsbedingungen: a) NEt_3 , CS_2 , EtOH, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, RT, 90 min; dann CH_3I , H_2O , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, RT, 3d, 73%.

In einer unkompliziert durchzuführenden Eintopfreaktion wurde racemisches 3-Amino-1,2-propandiol **81** zunächst in EtOH gelöst, mit NEt_3 deprotoniert und mit CS_2 zum Dithiocarbamat umgesetzt. Das präzipitierende Salz wurde durch Zugabe von wenig Wasser in Lösung gebracht und anschließend unter Verwendung von CH_3I am Schwefel methyliert. Nach dreitägigem Rühren bei Raumtemperatur wurde **80** mittels Säulenchromatographie gereinigt und *in vacuo* getrocknet.

3.3.5.1.1 Verhalten von **80** gegenüber DNA-Synthesebedingungen

Während der DNA-Synthese werden verschiedene Schritte durchlaufen und dementsprechend verschiedene Reagenzien benötigt. Eine genauere Beschreibung des Syntheszyklus ist im experimentellen Teil dieser Arbeit zu finden. Verbindung **80** wurde – wie bei Phosphoramiditen üblich – in CH_3CN gelöst und mit jeweiligen Chemikalien versetzt. Dabei wurden die DNA-Synthesebedingungen bezüglich der Konzentration und Äquivalente der

Chemikalien sowie die Reaktionszeiten simuliert. Für die Entschützung wurde DCA in CH_2Cl_2 eingesetzt. Die Aktivierung wurde unter Verwendung von BTT in CH_3CN simuliert. Der *Capping*-Schritt wurde unter Verwendung von 1-Methylimidazol und Ac_2O sowie mit Pac_2O simuliert. Letzteres wird für die Ultramild[®]-Synthese benötigt. Die Reaktionszeiten wurden jedoch verkürzt, da die freien OH-Gruppen mit den genannten Reagenzien reagieren. Die erhaltenen HPL-Chromatogramme vor und nach der Umsetzung von **81** sind in Abb. 73 zusammengefasst. Anhand der erhaltenen Daten ist zu schließen, dass die Verbindung gegenüber den gängigen Synthesechemikalien stabil ist.

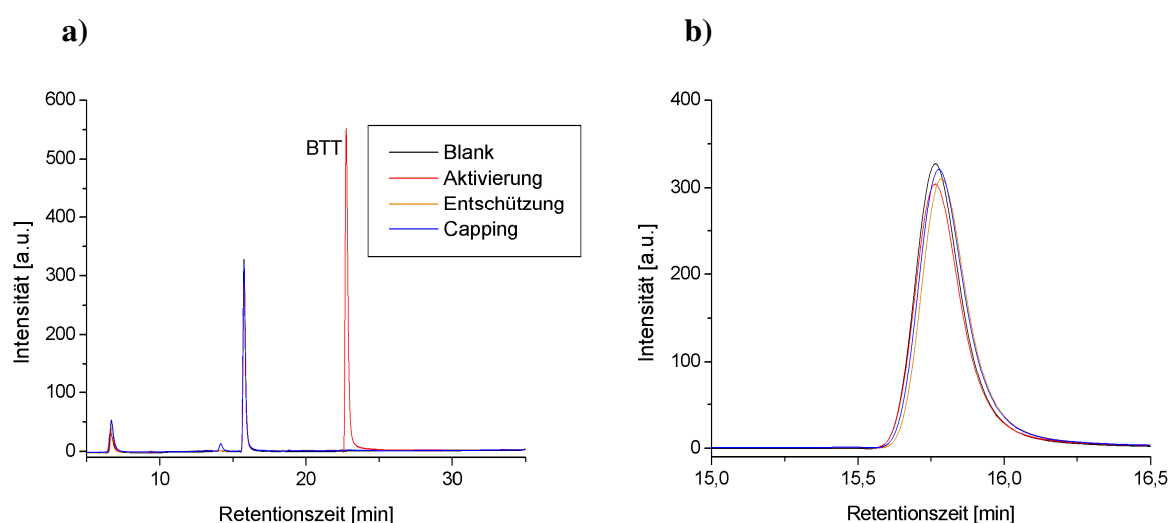


Abb. 73: a) HPL-Chromatogramm von **80** vor sowie nach Umsetzungen mit verschiedenen, für die DNA-Synthese relevanten Chemikalien. b) Vergrößerter Ausschnitt.

Unter Standardbedingungen werden für den Oxidationsschritt der DNA-Synthese, bei dem Phosphittriestern (P^{III}) zu Phosphotriestern (P^{V}) oxidiert werden, wässrige Lösungen von Iod eingesetzt. Wegen der generellen Thiophilie von Iod kann dies zu erheblichen Problemen führen. Ferner führen Spuren von Wasser generell zu drastischen Verschlechterungen der Ausbeuten der DNA-Synthese.

Aus diesen und weiteren Gründen wurden zahlreiche Varianten für den Oxidationsschritt entwickelt, die überwiegend, jedoch nicht ausschließlich unter Ausschluss von Wasser durchgeführt werden. Einige dieser Varianten sind in Abb. 74 gezeigt. Sangvi¹⁵¹ benutzte beispielsweise ein Gemisch aus NBS, DMSO und CH_3CN (Variante a). Sekine¹⁵² berichtete über die Verwendung von DOD in THF (Variante d) und Manoharan¹⁵³ zeigte, dass ein enantiomerenreines Oxaziridin (CSO, Variante e) als Oxidationsmittel eingesetzt werden kann. Fer-

ner existieren verschiedene Arbeiten, bei denen Peroxide zur Oxidation eingesetzt wurden. Hayakawa, Uchiyama und Noyori¹⁵⁴ untersuchten unter anderem die Verwendungsmöglichkeiten von TMSOOTMS, ^tBuOOH (Variante f), Cumolperoxid sowie H₂O₂, allerdings waren ihre Experimente auf die Synthese von Dinukleotiden beschränkt. Cvetovich¹⁵⁵ führte Oxidationen ebenfalls mit H₂O₂ durch und Fourrey sowie Varenne¹⁵⁶ beschrieben die Verwendung von Iodbenzol Diacetat (Variante g) sowie Tetrabutylammonium Periodat (Variante i). Hayakawa¹⁵⁷ konnte Dinukleotide unter Verwendung von Ethyl(methyl)dioxiran (Variante h) synthetisieren.

Schließlich konnte Sekine¹⁵⁸ zeigen, dass leichte Änderungen der Standardmethode, der Oxidation mit Iod in Wasser, Lutidin und CH₃CN (Variante b) erfolgreich insbesondere bei schwefelhaltigen Nukleosiden angewandt werden kann. Er setzte eine etwas verdünntere Lösung von Iod in Wasser, Pyridin und THF (Variante c) ein.

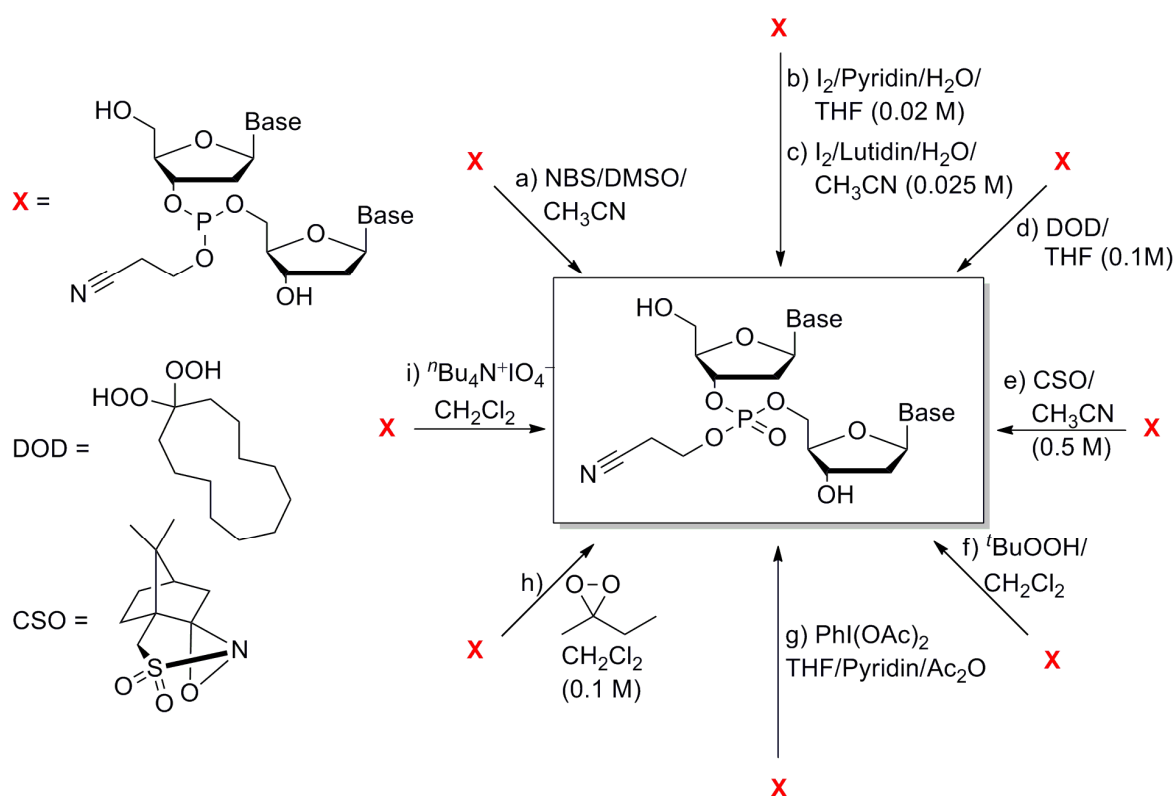


Abb. 74: Schematische Darstellung verschiedener Oxidationsmöglichkeiten in der DNA-Synthese.

Dem gegenüber stehen Reaktionen, bei denen Thiocarbonylverbindungen – teilweise unter Verwendung einiger der oben aufgeführten Reagenzien – zu den entsprechenden Carbonylverbindungen sowie weitere Produkte umgesetzt werden. Solche oxidative Substitutionen der Thiocarbonylgruppe wurden beispielsweise mit NBS (Variante a) beobachtet, wie *Furumoto*¹⁵⁹ berichtete. *Nicoletti* sowie *Kusabayashi*¹⁶⁰ benutzten für solche Umsetzungen Dimethyldioxiran (analog Variante h) und *Pourali*¹⁶¹ beobachtete, dass Tetrabutylammonium Periodat (Variante i) ebenfalls zur Bildung von Carbonylverbindungen aus Thiocarbonylverbindungen geeignet ist. *Pinnick*¹⁶² benutzte *m*CPBA. Selbst die Verwendung von Bäckerhefe führte zu Carbonylverbindungen, wie *Kamal*¹⁶³ zeigte. *Mikolajczyk* und *Luczak*¹⁶⁴ sowie *Ishikawa*¹⁶⁵ erhielten gleiche Ergebnisse durch Verwenden von DMSO und katalytische Mengen Iod, allerdings nur bei stark erhöhten Temperaturen. Besonderes Augenmerk ist auf die Verwendung von Iod in solchen Reaktionen zu legen, da dies wie erwähnt als Standard-oxidationsmittel in der DNA Synthese eingesetzt wird. *Rajappa*¹⁶⁶ konnte in diesem Zusammenhang zeigen, dass katalytische Mengen Iod zur Isomerisierung von *O*-Methyl-thiocarbamaten zu *S*-Methyl-carbamaten führt. Demethylierung führt in diesem Fall vermutlich zur Bildung von CH₃I, das der eigentliche Katalysator ist.

Nachdem wie oben beschrieben einige DNA-Synthesereagenzien ausgeschlossen werden müssen, da sie zu unerwünschten Nebenreaktionen führen können, wurde untersucht, inwieweit sich wässrige Lösungen von Iod in verschiedenen Lösemittelgemischen sowie Konzentrationen einsetzen lassen. Das in *Abb. 75a* gezeigte HPL-Chromatogramm zeigt, dass die in der Arbeitsgruppe *Carell* benutzte Iod-Lösung (0.025 M in Wasser/2,6-Lutidin, Acetonitril) für die Oxidation nicht geeignet ist, da es zu einer Zersetzung des Edukts kommt. Die bereits oben erwähnte, von *Sekine* eingesetzte Iod-Lösung (0.02 M in Wasser/ Pyridin/THF) zeigte im Gegensatz dazu nicht die gleiche Wirkung auf Verbindung **80**.

Neben Lösungen von Iod wurde auch untersucht, ob *t*BuOOH für den Oxidationsschritt während der DNA-Synthese geeignet ist. Wie aus *Abb. 75b* hervorgeht, führte die Zugabe von *t*BuOOH gemäß den publizierten Bedingungen¹⁵⁶ (1.1 M in CH₂Cl₂, Oxidationszeit 50 Sekunden) jedoch zur sukzessiven Bildung eines nicht näher untersuchten Nebenprodukts.

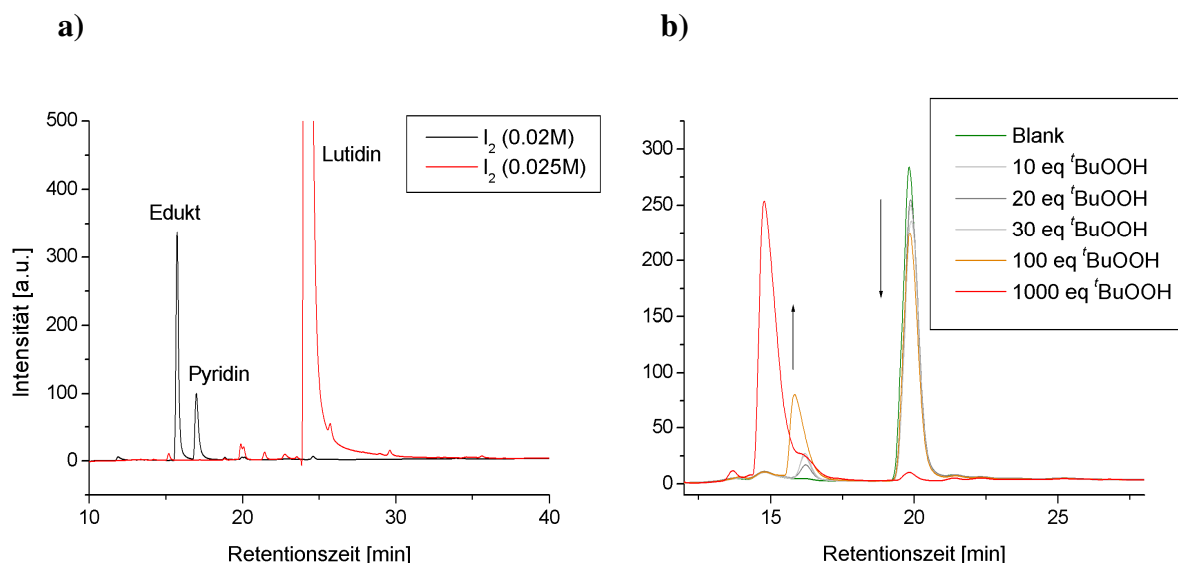


Abb. 75: HPL-Chromatogramme von **80** vor sowie nach Umsetzungen mit DNA-Synthese relevanten Oxidationsreagenzien. a) I_2 (0.02 M) in Wasser, Pyridin und THF sowie I_2 (0.025 M) in Wasser, 2,6-Lutidin und CH_3CN ; b) $tBuOOH$ (1.1 M in CH_2Cl_2).

Abschließend wurde das Verhalten von **80** gegenüber den Bedingungen des letzten Schritts der DNA-Synthese, der Entfernung der an den Basen dA, dC sowie dG befindlichen Schutzgruppen sowie die Abspaltung vom CPG-Träger näher untersucht. Unter Standardbedingungen wird dazu in aller Regel NH_4OH in Ethanol verwendet. Im Falle einer Ultramild®-DNA-Synthese kommt K_2CO_3 in CH_3OH (0.05 M) zum Einsatz. Da in beiden Fällen ein sehr hoher Überschuss dieser genannten Reagenzien eingesetzt wird, wurden anstelle von HPLC-Experimenten ^{13}C -NMR-Messungen durchgeführt, bei denen insbesondere auf Änderungen der Thiocarbonylsignale bei etwa 200 ppm sowie der SCH_3 -Signale bei etwa 20 ppm geachtet wurde. Die Ergebnisse sind in Abb. 76 gezeigt.

Es stellte sich heraus, dass die Verwendung von NH_4OH nicht möglich ist. Schon bei Raumtemperatur wurde bereits nach wenigen Stunden eine deutliche Abnahme der Intensität des Thiocarbonyl-C-Atoms und somit eine Reaktion an selbigem beobachtet. Da diese Entschützungen bei Standardbedingungen in der Regel über Nacht sowie bei erhöhten Temperaturen durchgeführt werden, wurde die Probe nach weiteren 14 h vermessen. Innerhalb dieses Zeitraumes kam es zu einer vollständigen Zersetzung des Moleküls **80**. Im Gegensatz dazu führte die bei Ultramild® DNA-Synthesen eingesetzte methanolische Lösung von K_2CO_3 auch nach 18 h bei Raumtemperatur zu keinerlei Veränderungen sowohl im Bereich der Thiocarbo-

nylgruppe als auch im gesamten Bereich des ^{13}C -NMR- Spektrums. Die Bildung von Nebenprodukten konnte nicht festgestellt werden.

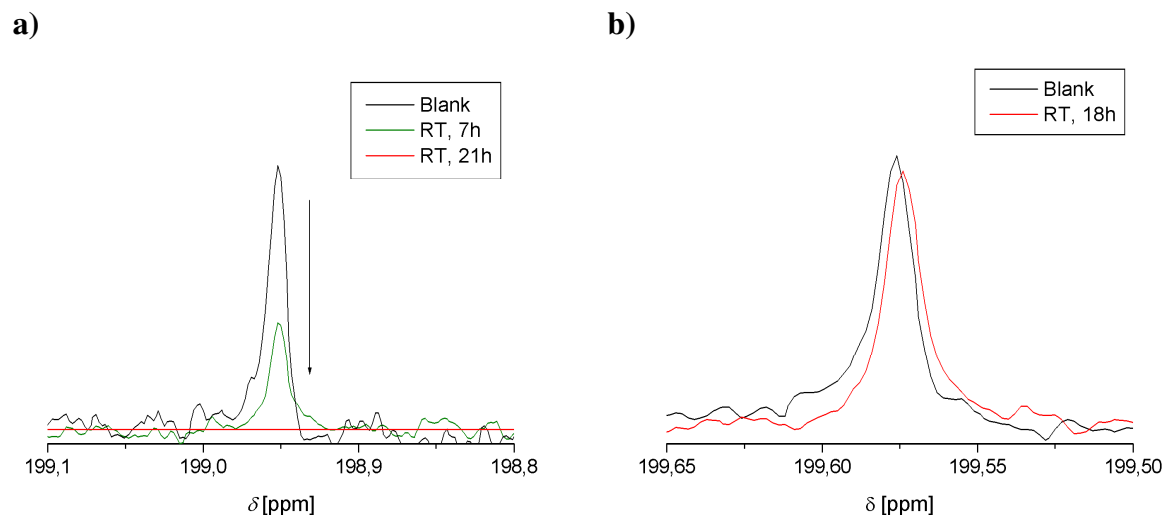


Abb. 76: Ausschnitte der ^{13}C -NMR Spektren (100 MHz) von **80** vor und nach Umsetzungen mit in der DNA-Synthese gebräuchlichen Entschützungsreagenzien. a) Umsetzungen mit NH_4OH ; b) Umsetzungen mit K_2CO_3 in CH_3OH (0.05 M).

Aufgrund der genannten Ergebnisse sollte für den Einbau eines *S*-Methyl-dithiocarbamats mittels automatisierter DNA-Festphasensynthese nach dem Phosphoramidit-Verfahren auf Ultramild[®]-Bedingungen zurückgegriffen werden. Für den Oxidationsschritt sollte eine Iod-Lösung (0.02 M in Wasser/Pyridin/THF) eingesetzt werden.

3.3.5.2 DNA-Festphasensynthese mit Phosphoramidit **63**

Die automatisierte DNA-Festphasensynthese unter Verwendung des Phosphoramidits **63** konnte unter Ultramild[®]-Bedingungen erfolgreich durchgeführt werden. Es wurden stets gute Trityl-Werte erhalten. Weitere Details zur DNA-Synthese sind im Experimentaltail beschrieben. Die Sequenzen der synthetisierten DNA-Stränge wurden nach *Clever*¹⁶⁷ gewählt, um einen direkten Vergleich hinsichtlich der Stabilität eines *S*-Methyl-dithiocarbamat- bzw. Dithiocarbamat-vermittelten Metall-Basenpaares mit dem Salen-Basenpaar **12** zu ermöglichen:

ODN9: 3'-ATG-TTG-TXA-TTA-CAC-5'

ODN10: 3'-GTG-TAA-TXA-CAA-CAT-5'

Nach Abspaltung vom Träger und Entfernung der Schutzgruppen mit K_2CO_3 in Methanol wurden analytische HPLC-Experimente der unaufgereinigten Stränge durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass verschiedene Produkte entstanden sind, wie das HPL-Chromatogramm in *Abb. 77* verdeutlicht.

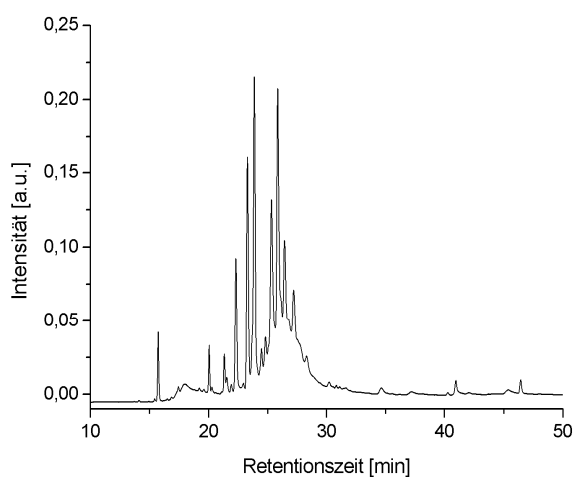


Abb. 77: HPL-Chromatogramm des rohen DNA Strangs **ODN9**.

Nach mehrfachen Aufreinigungen konnten schließlich drei Produkte isoliert und mittels HPLC (*Abb. 78*) sowie MALDI-TOF-Spektroskopie (ohne Abb.) näher untersucht werden.

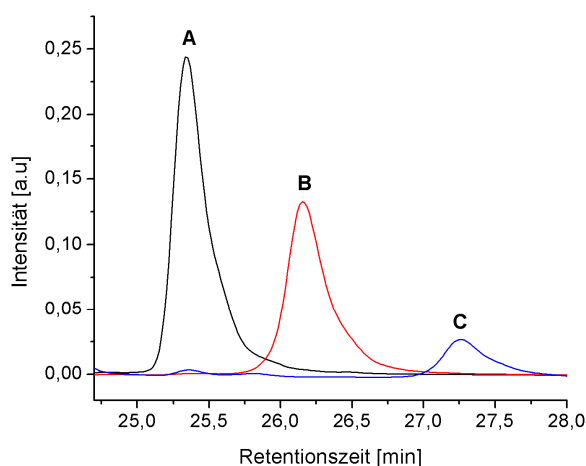


Abb. 78: Zusammengefasste HPL-Chromatogramme des DNA-Strangs **ODN9** nach mehrfacher Aufreinigung.

Es stellte sich heraus, dass das Hauptprodukt **A** eine Massendifferenz von $\Delta m/z = 32$ aufwies. Produkt **B** wies eine Massendifferenz von $\Delta m/z = 16$ auf. Produkt **C** hatte eine Masse von $m/z = 4552$ und entsprach damit dem gewünschten *S*-Methyl-dithiocarbamat (ber. $[M-H]^-$ 4556).

Die möglichen Strukturen der beiden in sehr großen Mengen gebildeten Produkte **A** und **B** sind in Abb. 79 gezeigt. Bei dem Produkt **A** ($\Delta m/z = 32$) kann es sich um einen Iminothioether handeln, der formal durch reduktive Entschwefelung gebildet wurde. Das Produkt **B** mit der Massendifferenz ($\Delta m/z = 16$) könnte durch Substitution eines Schwefels durch Sauerstoff gebildet worden sein; dementsprechend könnte es sich hierbei um ein *S*-Methyl-thiocarbamat handeln. Andere Nebenprodukte konnten – abgesehen von Abbruchsequenzen – nicht nachgewiesen werden.

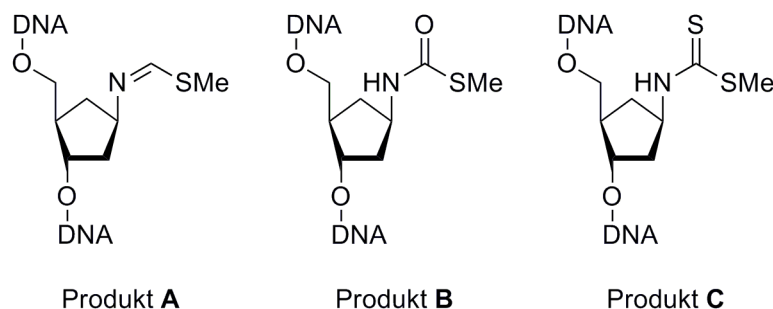


Abb. 79: Schematische Darstellung der drei entstandenen Produkte nach Aufreinigung von **ODN9** mittels HPLC.

Nach enzymatischem Totalverdau und Analyse der jeweiligen Proben mittels LC/ESI-MS bestätigte sich die Bildung der beiden vorgeschlagenen Produkte **A** und **B** (Abb. 80). Der erfolgreiche Einbau des gewünschten *S*-Methyl-dithiocarbamats (Produkt **C**) konnte ebenfalls mittels enzymatischem Totalverdau belegt werden. Alle drei Modifikationen lagen als nicht vollständig verdaute, dA-enthaltene Dinukleotide vor. Die teilweise etwas größere Diskrepanz zwischen den berechneten und gefundenen Werten hängt mit der Kalibrierung des Massenspektrometers zusammen. Für die vier natürlichen Basen wurden ebenfalls entsprechend hohe Abweichungen festgestellt.

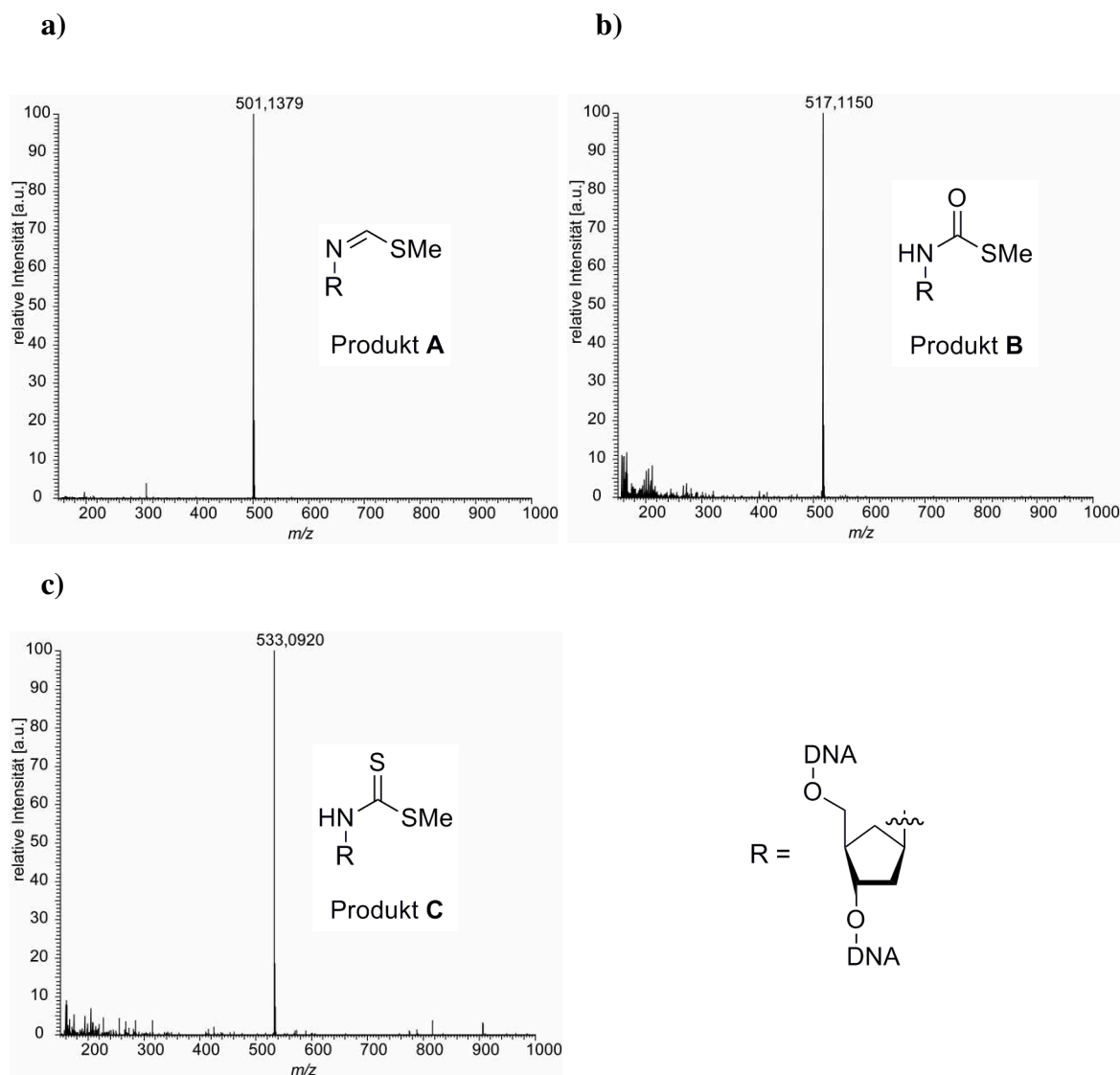


Abb. 80: Nach enzymatischem Totalverdau von **ODN9** erhaltene ESI-MS Spektren. a) Spektrum des Iminothioethers (Produkt **A**), ber. 501.1327, gef. 501.1379; b) Spektrum des *S*-Methyl-thiocarbamats (Produkt **B**), ber. 517.1276, gef. 517.1150; c) Spektrum des *S*-Methyl-dithiocarbamats (Produkt **C**), ber. 533.1047, gef. 533.0920.

Eine mögliche Erklärung für die Entstehung des Nebenprodukts **B** ist in Abb. 81 gezeigt. Demnach kann die Hydrolyse von **C** zur Bildung des Thiocarbamats **B** führen. Dieses Produkt kann weiter hydrolysiert werden, wobei ein instabiles Carbaminsäure-Derivat entstehen kann. Decarboxylierung führt schließlich zu aminmodifizierter DNA (Produkt **D**).

In der Tat zersetzten sich Lösungen von *S*-Methyl-dithiocarbamatmodifizierter DNA innerhalb weniger Tage unter Bildung von aminmodifizierter DNA, wie mittels HPLC und

LC/ESI-MS gezeigt werden konnte. Eine vollständige Zersetzung fand jedoch auch nach mehrwöchiger Lagerung nicht statt.

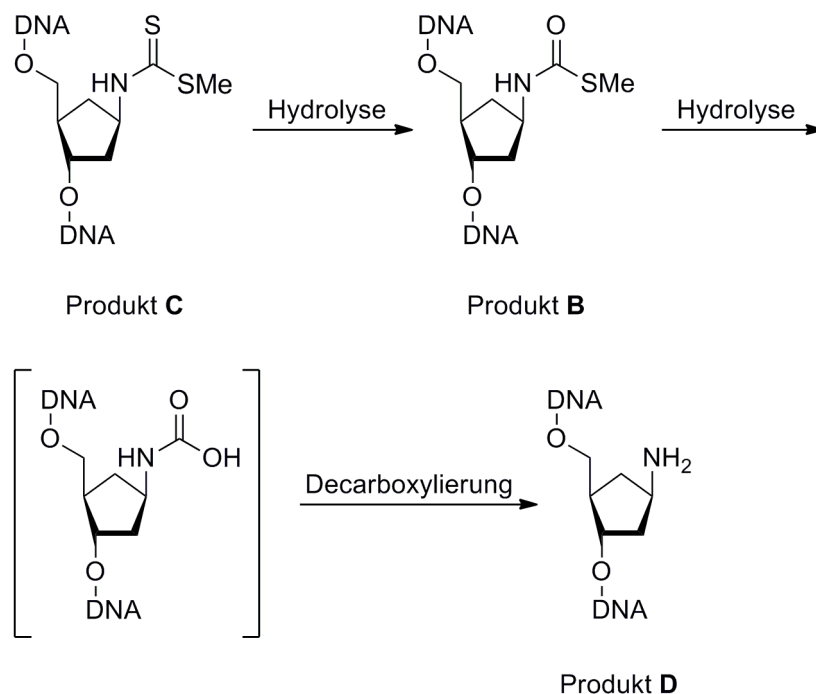


Abb. 81: Denkbare Bildung des Produkts **B** durch Hydrolyse von **C**.

Eine weitere Möglichkeit, wie Produkt **B** gebildet werden könnte, ist in Abb. 82 schematisch dargestellt.

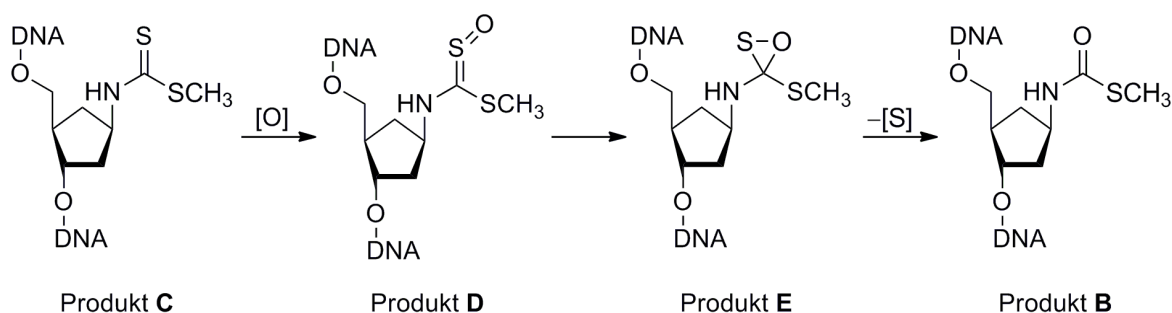


Abb. 82: Denkbare Bildung des Nebenprodukts **B** via Sulfin sowie Oxithiiran.

In Anlehnung an Arbeiten von Metzner¹⁶⁸, die Oxidationen von *S*-Methyl-dithiocarbamaten mit *m*CPBA durchführten, um das Reaktionsverhalten der so zugänglichen Sulfine näher zu untersuchen, kann Oxidation des Thiocarbonyls zu einem Sulfin (Produkt **D**) führen, das in

einer Elektrozyklisierung weiter zu einem Oxithiiran (Produkt **E**) reagiert. Nach Abscheidung von Schwefel ist eine mögliche Bildung eines *S*-Methyl-thiocarbamats (Produkt **B**) denkbar. Allerdings ist zu erwähnen, dass in den durchgeführten Studien zwar das dem Produkt **B** entsprechende Thiocarbamat erhalten wurde, dies jedoch stets mit der Bildung bzw. Rückgewinnung der DTC Ester (im Verhältnis 1:1) verbunden war.¹⁷⁰

Bei der Bildung des Iminothioethers (Produkt **A**) handelt es sich formal um eine reduktive Entschwefelung, die während des Oxidationsschritts der DNA-Synthese auftreten kann. Iminothioether hydrolysieren in basischem Milieu zu *S*-Methyl-thiocarbamaten. Dies kann als weitere Erklärung der hauptsächlichen Entstehung von Produkt **B** herangezogen werden.¹⁶⁹

3.3.5.3 Untersuchungen zum Komplexierungsverhalten *S*-Methyl-dithiocarbamat-modifizierter Oligonukleotide

In einleitenden Experimenten zur Bildung eines Metall-MDTC-Basenpaares wurden die hybridisierten Oligonukleotide **ODN9/ODN10** (1 μM) schrittweise mit einer wässrigen Lösung von $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ versetzt (Abb. 83).

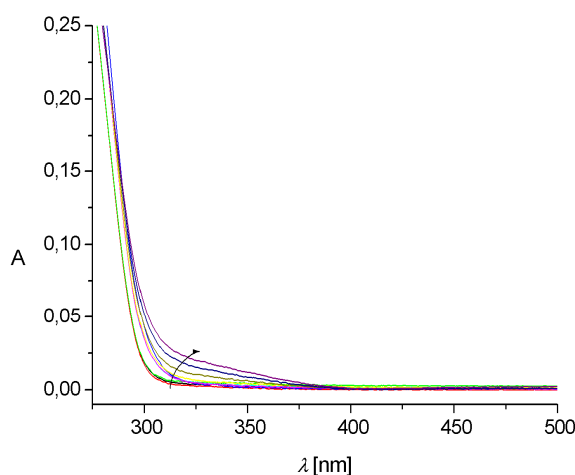


Abb. 83: UV/Vis-Spektrum von **ODN9/ODN10** (1 μM in 10 nM MOPS, 150 mM NaCl (pH 7) nach Zugabe von bis zu 10 eq $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$.

Charakteristische Änderungen des UV/Vis-Spektrums konnten erst durch Zugabe von bis zu 10 eq Pd^{2+} , die in Schritten von 1 eq erfolgte, beobachtet werden. Die Notwendigkeit eines

Überschusses an Metallionen kann auf unspezifisches koordinieren an verschiedenen Stellen der DNA zurückgeführt werden.

Analog den Komplektierungsstudien, die mit dem Liganden **58** durchgeführt wurden, ist auch im Fall der modifizierten Oligonukleotide das Auftreten einer neuen, rotverschobenen Absorptionsbande erkennbar, die auf eine Koordination von Pd^{2+} – zumindest an den eingeführten Thiocarbonyl-Gruppen – und somit auf die Bildung eines Palladium- schwefelhaltigen Basenpaares schließen lässt. Ein endgültiger Nachweis mittels ESI-MS gelang jedoch bislang nicht. Das entsprechende Gold-MDTC-Basenpaar konnte ebenfalls nicht mittels ESI-MS nachgewiesen werden.

3.4 Entwicklung eines Thioharnstoff-Liganden zur Koordinierung weicher Metallionen in DNA

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ferner Studien bezüglich des Komplexverhaltens weicher Metallionen gegenüber einem Thioharnstoff-Derivat durchgeführt. In der Literatur wurden bislang zahlreiche Metallkomplexe dieser Verbindungsklasse beschrieben. Grundsätzlich sollte es in diesem Fall möglich sein, mit relativ geringem Aufwand einen entsprechenden Liganden **82** auf Basis der 2'-Desoxyribose zu entwickeln. Alternativ ist auch ein Derivat **83** mit carbozyklischem Rückgrat denkbar. Abb. **84** zeigt die beiden möglichen Strukturen.

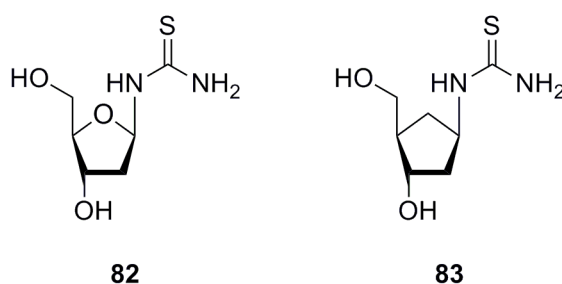


Abb. **84**: Mögliche Thioharnstoff-Derivate **82** und **83** als Vorstufen für die DNA-Synthese sowie zur Koordination weicher Metallionen.

Der Thioharnstoff **82** kann prinzipiell – ausgehend von dT – durch Oxidation, beispielsweise mit KMnO_4 , gefolgt von alkalischer Hydrolyse und Umsetzung, z.B. mit *Lawessons-Reagenz*¹⁷⁰ zugänglich gemacht werden. Die Reaktion zum Harnstoff-Derivat ist im Falle von

5'-MMTr-geschütztem dT **84** (Abb. 85) in der Literatur beschrieben.¹⁷¹ So gelang es zwar das Harnstoff-Derivat **85** zu synthetisieren, allerdings lag die Verbindung als nicht trennbares Anomerengemisch im Verhältnis $\alpha:\beta = 1:1$ vor. Die Entwicklung eines Thioharnstoff-Liganden auf Basis der 2'-Desoxyribose **82** wurde daher nicht weiter verfolgt. Sämtliche Bestrebungen zur Entwicklung eines Thioharnstoff-Liganden wurden auf die carbozyklische Verbindung **83** fokussiert.

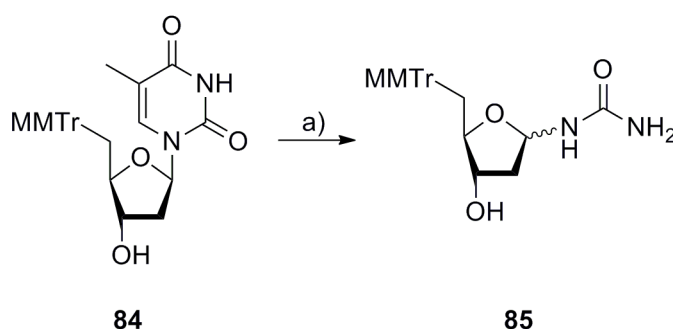


Abb. 85: Schematische Darstellung der Synthese des Harnstoff-Derivats **85**. Reaktionsbedingungen: a) KMnO₄, Pyridin, Aceton, RT, 2 h; dann NaOH, H₂O, EtOH, RT, 1 h, 47% (über 2 Stufen).

Zunächst wurde versucht, Fmoc- und Benzoyl-geschützte Derivate **86** und **87** der Verbindung **83** zu synthetisieren, indem ausgehend vom Carbamat **61** zunächst *N*-Boc-Entschützungen durchgeführt und anschließend Umsetzungen mit Fmoc-Isothiocyanat sowie Benzoyl-Isothiocyanat durchgeführt wurden (Abb. 86). Ferner wurde versucht, nach der Entfernung der Boc-Schutzgruppe zunächst die 3'- und 5'-Positionen unter Verwendung von TMSCl zu schützen. In allen Fällen wurden jedoch – auch unter Variation der Reaktionsbedingungen – komplexe Produktmischungen erhalten. Die Verbindungen **86** und **87** waren nicht enthalten.

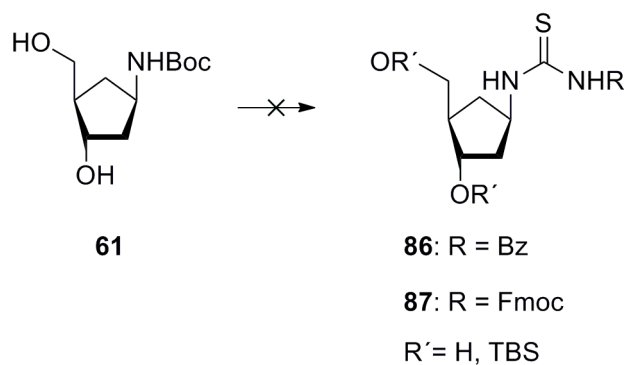


Abb. 86: Die Synthese der Verbindungen **86** und **87** war nicht erfolgreich.

Die Synthese von **83** gelang schließlich auf deutlich einfachere Art und Weise und zwar ausgehend von einer in dieser Arbeit bereits synthetisierten Vorstufe, nämlich dem *S*-Methyl-dithiocarbamat **58**. Wie in Abb. 87 gezeigt ist, konnte die gewünschte Verbindung durch kontrollierte nukleophile Substitution der SCH₃-Gruppe gegen eine NH₂-Gruppe erhalten werden.

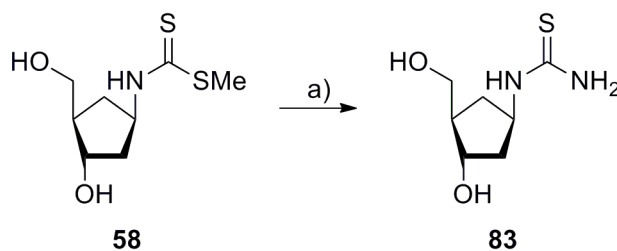


Abb. 87: Schematische Darstellung des Thioharnstoff-Liganden **83**. Reaktionsbedingungen: a) NH₄OH, 60 °C, 3h, 70%.

Dies erfolgte in Anlehnung an *Saidi* durch Verwendung von NH₄OH.¹²² Nach dreistündigem Rühren bei 60 °C, gefolgt von Umkehrphasen-Säulenchromatographie konnte **83** in Ausbeuten von etwa 70% isoliert werden.

3.4.1 Studien zum Komplexierungsverhalten des Thioharnstoff-Liganden **83**

In Analogie zum *S*-Methyl-dithiocarbamat-Liganden **58** wurde der Thioharnstoff Ligand (TH) **83** näher auf dessen Verhalten gegenüber verschiedenen weichen Metallionen in Wasser untersucht. Abweichend wurden jedoch nur Experimente basierend auf UV/Vis-Spektros-

kopie sowie ESI-MS durchgeführt. Titrationsen von wässrigen Lösung des Liganden **83** (0.1 mM) wurden mit Ag^+ -, Pd^{2+} - sowie Au^{3+} -Ionen durchgeführt.

Titrationen mit Ag^+ -Ionen (Abb. 88) führten wie erwartet zu einer 1:2 Verbindung **88** vom Typ $[\text{Ag}(\text{TH})_2]^+$. Im UV/Vis-Spektrum ist nach Zugabe von 0.5 eq Ag^+ neben einer kontinuierlichen Abnahme der Absorption des freien Liganden bei 240 nm eine bathochrome Verschiebung nach etwa 350 nm zu erkennen.

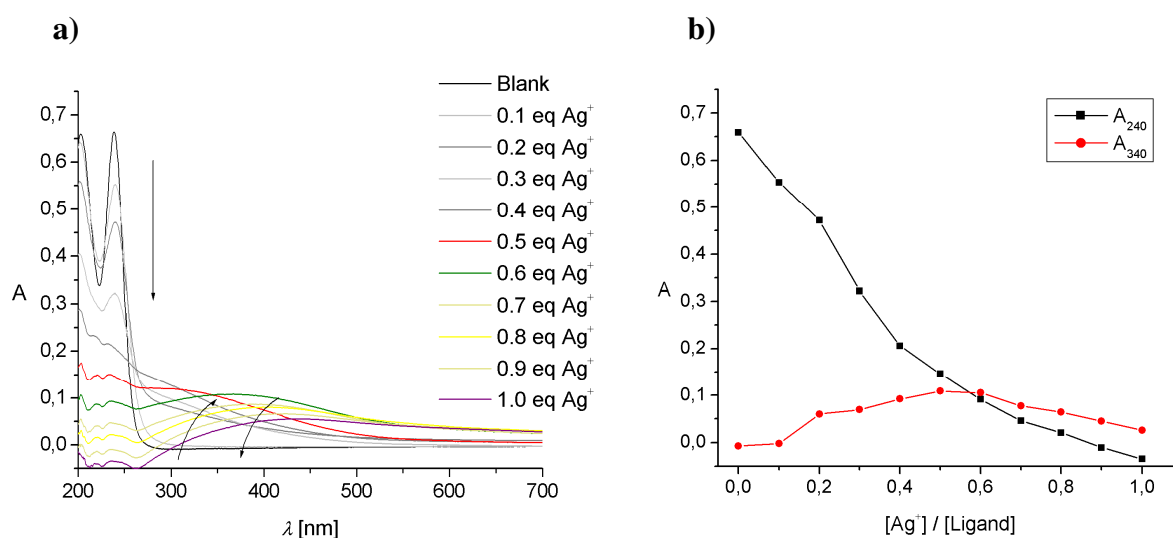


Abb. 88: Titrationsen des Thioharnstoff-Derivats **83** mit Ag^+ -Ionen. a) UV/Vis-Spektrum; b) Auftragung der Absorptionen bei 240 nm sowie 340 nm gegen die Äquivalente an Ag^+ .

Die Titrationsen von **83** mit Au^{3+} (Abb. 89a) sowie Pd^{2+} (Abb. 89b) führten zu Veränderungen bezüglich der Abnahme der Absorptionen des nicht komplexierten Liganden nach Zugabe der jeweiligen Metallionen. Die Bildung der entsprechenden Komplexverbindungen, $[\text{Pd}(\text{TH})_4]^{2+}$ **89** und $[\text{Au}(\text{TH})_2]^+$ **90** wie sie im Falle von Pd^{2+} sowie Au^{3+} erwartet werden, konnte jedoch nicht bestätigt werden.

Vielmehr stellte sich heraus, dass der Thioharnstoff-Ligand **83** in Lösung äußerst empfindlich gegenüber beiden Metallionen reagierte. Die Abnahme der Absorption des Liganden wurde schon durch Zugabe sehr geringer Mengen beobachtet. Die Zugabe stöchiometrischer Mengen führte in beiden Fällen zu Präzipitationen.

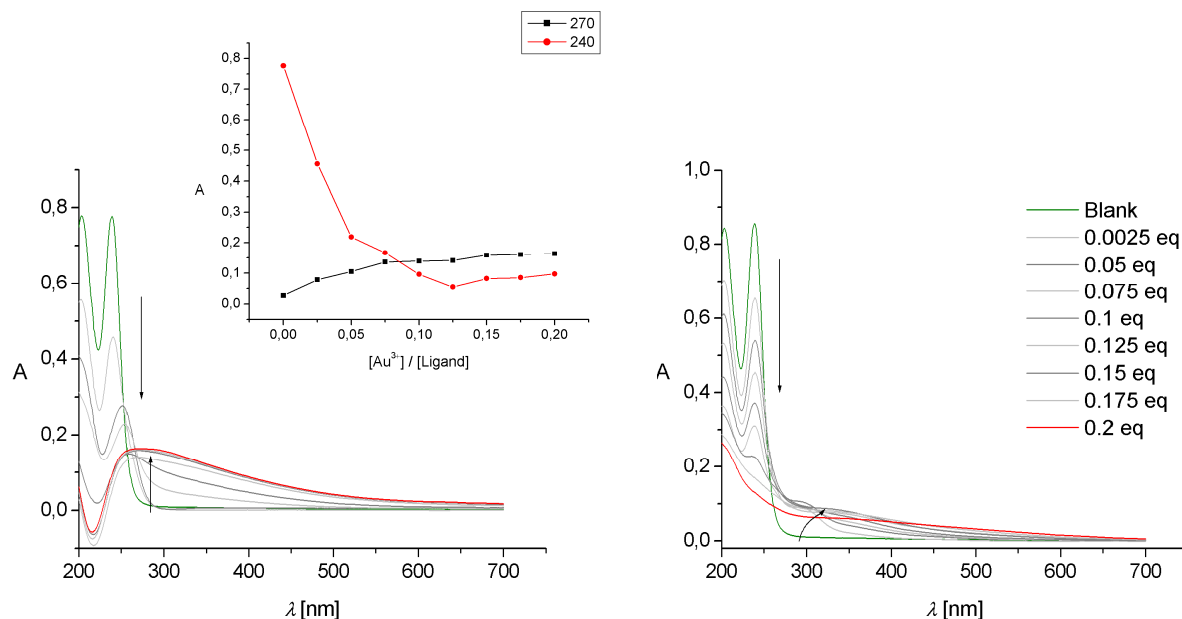


Abb. 89: UV/Vis-Spektren der Titration von **83**. a) Verwendung von Au^{3+} -Ionen; Inset: Auftragung der Absorptionen bei 240 nm sowie 270 nm gegen die Äquivalente an Au^{3+} ; b) Verwendung von Pd^{2+} -Ionen.

Für ESI-MS-Messungen wurden die in Abb. 90 gezeigten Komplexverbindungen **88** und **89** synthetisiert. **88** wurde durch Zusammengeben wässriger Lösungen von **83** und AgNO_3 im Verhältnis 2:1 erhalten. Es kam dabei zu einer sofortigen Präzipitation eines gelben Feststoffs, der abzentrifugiert und direkt für ESI-MS-Messungen eingesetzt wurde. In Analogie dazu wurde **90** unter Verwendung einer Lösung von $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ in Wasser als orangefarbener Feststoff erhalten. Die erhaltenen ESI-MS-Daten bestätigten die Bildung beider Komplexverbindungen.

a)

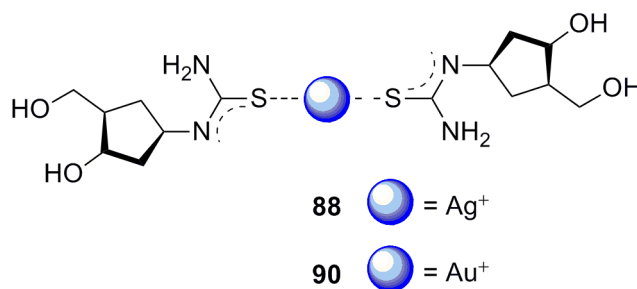


Abb. 90: a) Strukturvorschläge der Komplexverbindungen **88** und **90**.

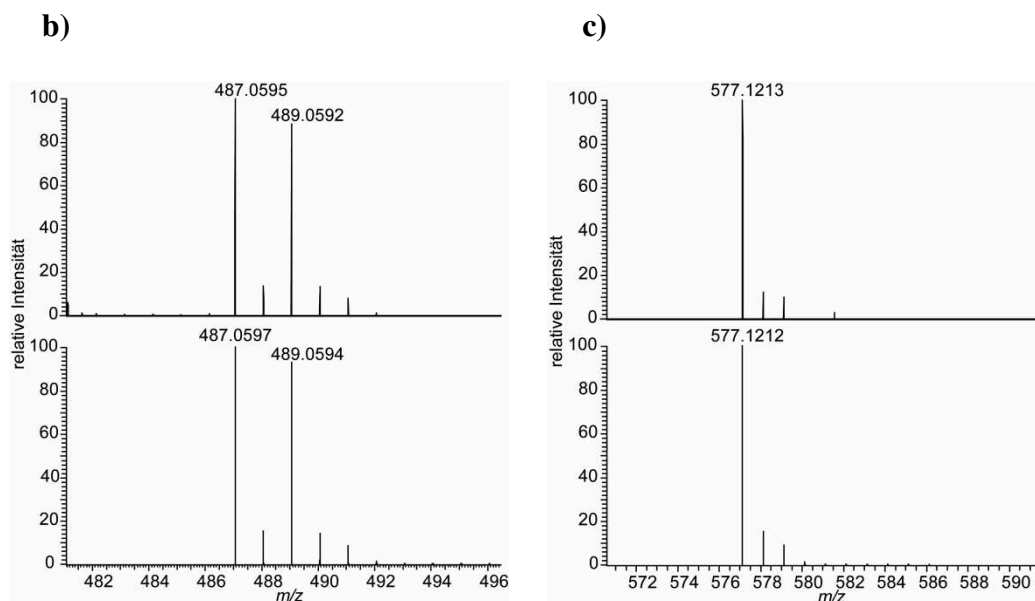


Abb. 90: Fortsetzung. b) ESI-MS Daten von $[\text{Ag}(\text{TH})_2]^+$ **88** (oben: gef. 487.0595, unten: ber. für $[\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{AgN}_4\text{O}_4\text{S}_2]^+$ 487.0597); c) ESI-MS Daten von $[\text{Au}(\text{TH})_2]^+$ **90** (oben: gef.: 577.1213, unten: ber. für $[\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{AuN}_4\text{O}_4\text{S}_2]^+$ 577.1212).

Die Pd^{II} -Verbindung $[\text{Pd}(\text{TH})_4]^{2+}$ **89** wurde unmittelbar nach Vereinen von **83** und einer Lösung von $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ (0.1 M in Wasser) im Verhältnis 4:1 als tiefroter Feststoff erhalten und nach Trocknung *in vacuo* ohne weitere Aufreinigungen vermessen. **89** konnte ebenfalls mittels ESI-MS nachgewiesen werden (Abb. 91).

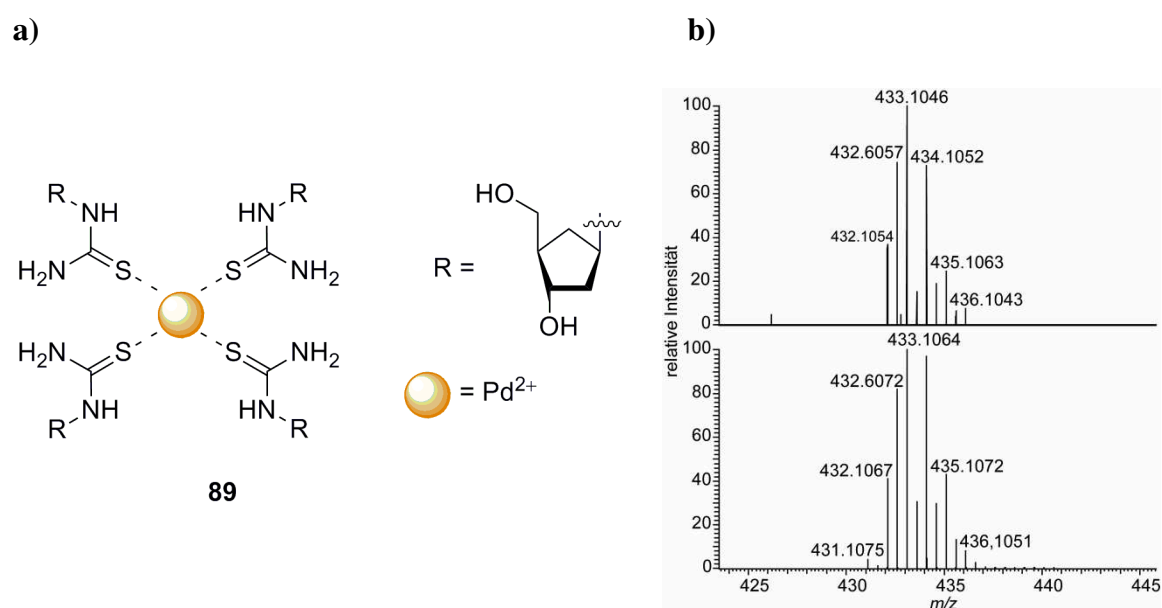


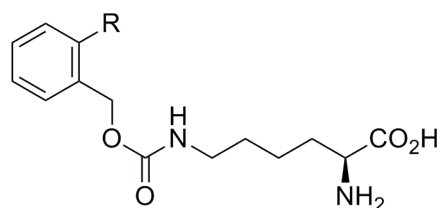
Abb. 91: a) Strukturvorschlag der Komplexverbindung **89**; b) ESI-MS Daten (oben: gef. 433.1046 ($z = 2$), unten: ber. für $[\text{C}_{28}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_8\text{PdS}_4]^{2+}$ 433.1064).

Da der Ligand **83** mit Pd^{2+} -Ionen Komplexverbindungen mit 4:1 Stöchiometrie liefert, ist die Koordination von Pd^{2+} in DNA-Duplexstrukturen unter Verwendung dieses Liganden nicht möglich. Ein Einbau in Oligonukleotide wurde daher nicht durchgeführt.

3.5 Synthese eines *L*-Lysin Derivats mit Aldehydfunktion zur sequenzspezifischen Modifizierung von Proteinen

3.5.1 Design eines *L*-Lysin-Derivats **91** und retrosynthetische Überlegungen

Die für die Proteinmodifizierung benötigte aldehydmodifizierte Aminosäure **91** wurde entsprechend anderen, erfolgreich mittels *Amber Suppressor* Technik unter Verwendung der Pyrrolysyl-tRNA Synthetase¹⁷² in Proteine inkorporierten Molekülen, gewählt (*Abb. 92*). Diese sind als Cbz-geschützte *L*-Lysin-Derivate zu sehen, die am Aromaten eine Modifikation in *ortho*-Position tragen. Es konnte gezeigt werden, dass somit – bezüglich Einbau in Proteine – die besten Ergebnisse erzielt wurden.¹⁷³



91 R = CHO **145** R = —≡

143 R = N₃ **146** R = NO₂

144 R = H **147** R = NHMe

Abb. 92: Mittels *Amber Suppressor* Technik erfolgreich in Proteine inkorporierte *ortho*-substituierte *L*-Lysin-Derivate sowie neues *L*-Lysin-Derivat **91**.

Aus retrosynthetischer Sicht (*Abb. 93*) kann die Synthese von **91** durch Umsetzung eines entsprechenden Säurechlorids **92** mit *N*-Boc geschütztem *L*-Lysin **93** erfolgen, wobei vorher eine Schützung der Aldehyd-Funktion, zum Beispiel als Acetal, durchzuführen ist. Das Säurechlorid **92** ist darstellbar aus Phtalaldehyd **94**, der zunächst zu **95** geschützt und anschließend zum primären Alkohol **96** reduziert wird.

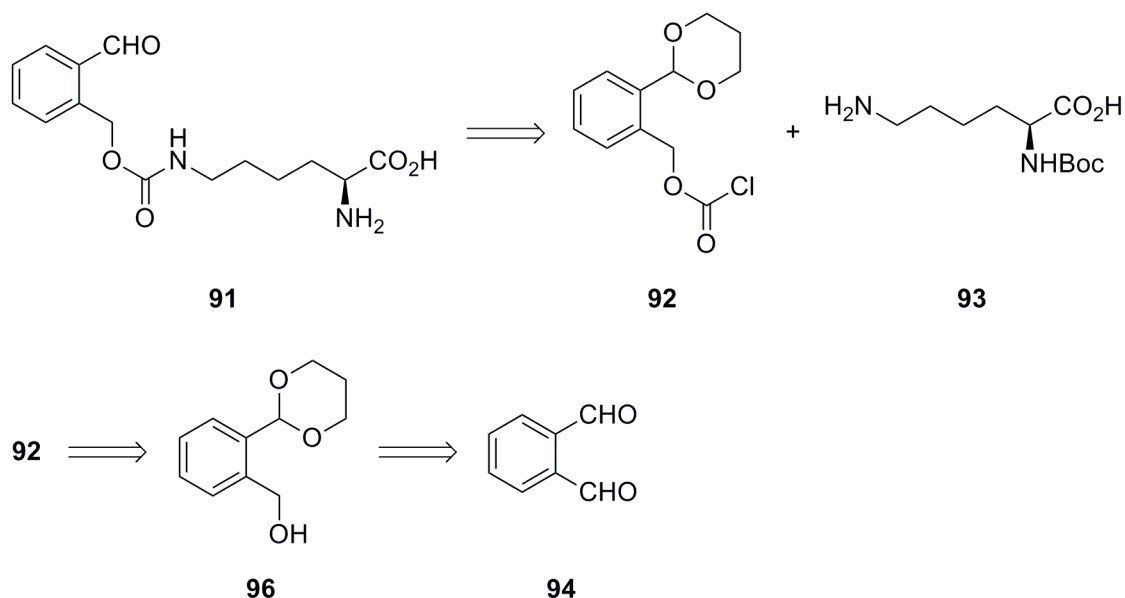


Abb. 93: Retrosynthetische Überlegungen zur Synthese von **91**.

Die Umsetzung des primären Alkohols **96** zum Säurechlorid **92** kann entweder mit Phosgen erfolgen oder unter Verwendung von Triphosgen¹⁷⁴, das den Vorteil hat, wesentlich sicherer gehandhabt zu werden und bei dem Phosgen *in situ* gebildet wird. Nach Entfernung aller Schutzgruppen, das heißt zunächst des Acetals und letztlich der *N*-Boc-Schutzgruppe sollte das *L*-Lysin-Derivat **91** erhalten werden.

3.5.1.1 Synthese des *L*-Lysin-Derivats **91**

Die Darstellung von **91** gelang in einer sechsstufigen Synthese (Abb. 94). Phthalaldehyd **94** wurde zunächst mit 1,3-Propandiol in Toluol unter Verwendung eines Wasserabscheiders zum Acetal **95** umgesetzt, das im nächsten Schritt mit NaBH₄ in Methanol zum primären Alkohol **96** reduziert wurde. Dieser konnte sowohl nach Aufreinigung mittels Destillation, als auch mittels Säulenchromatographie erhalten werden. Im nächsten Schritt erfolgte die Umsetzung mit Triphosgen in Ether zum Säurechlorid **92**, die über Nacht erfolgte. **92** wurde ohne weitere Aufreinigung unmittelbar mit *N*-Boc-Lys-OH **93** zum *L*-Lysin-Derivat **97** umgesetzt. Eine Steigerung auf moderate Ausbeuten von etwa 60% (über 2 Stufen) konnte erst nach deutlichen Verlängerungen der Reaktionszeit auf 40 h erreicht werden. Es zeigte sich, dass das Säurechlorid **92** auch nach mehrwöchiger Lagerung bei –20 °C unter Argon-Atmosphäre für Umsetzungen zum geschützten *L*-Lysin-Derivat **97** eingesetzt werden kann. Wie sich herausstellte, sollte die Entschützung des Aldehyds von **97**, die zum *N*-Boc geschützten *L*-

Lysin-Derivat **98** führt, in dieser Synthese das größte Problem darstellen. Allerdings war hier von großem Vorteil, dass es für diese Reaktion eine Vielzahl an Möglichkeiten gibt, ohne hierbei näher ins Detail zu gehen.¹⁷⁵

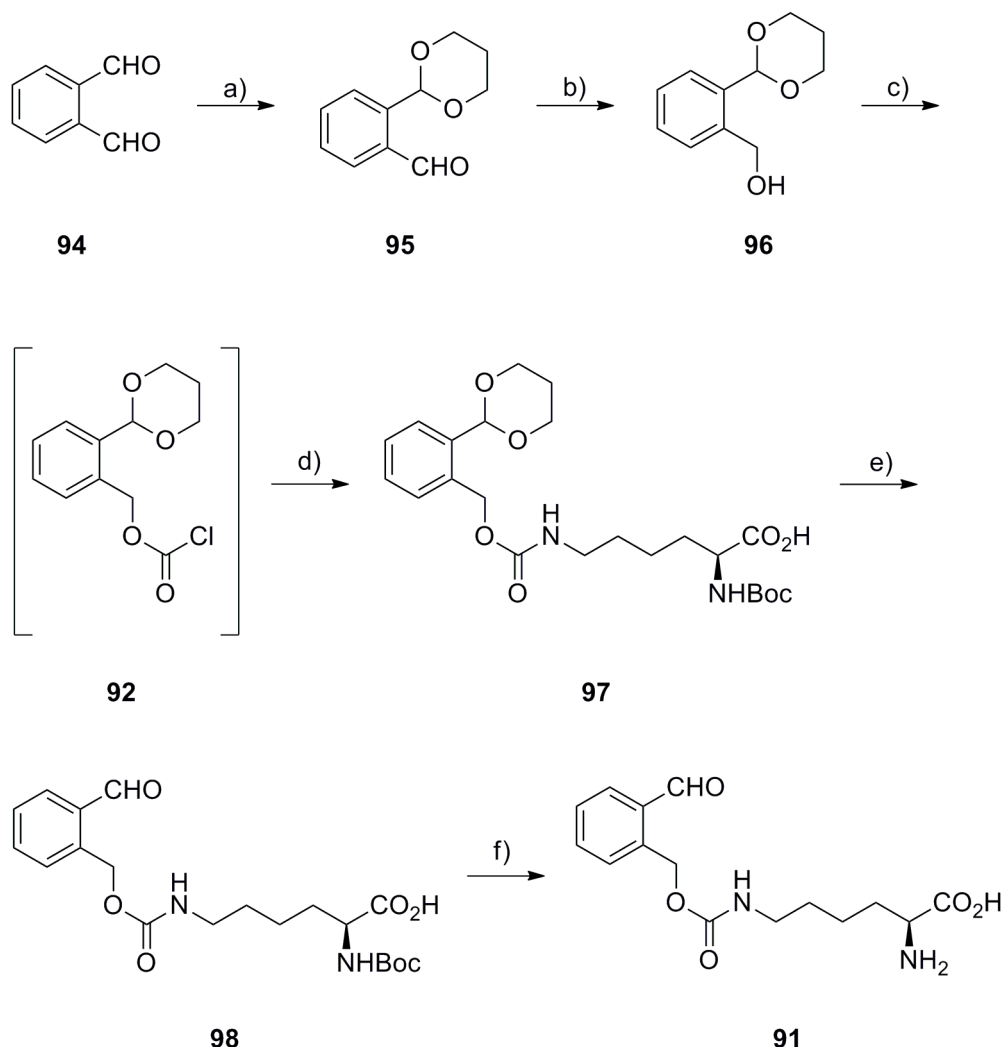


Abb. 94: Schematische Darstellung der Synthese von **91**; Reaktionsbedingungen: a) *p*TsOH, 1,3-Propandiol, Toluol, RF, 9 h, 68%; b) NaBH₄, CH₃OH, 0 °C, 30 min, quant.; c) (Cl₃C)₂CO, Et₂O, Aktivkohle, 0 °C → RT, RT, 12 h; d) *N*-Boc-Lys-OH **93**, NaOH/THF, 0 °C → RT, RT, 40 h, 61% (2 Stufen); e) InCl₃, CH₃OH/H₂O (1:1), 2 h, RF, 63%; f) HCl, Dioxan/H₂O, 2 h, RT, 89%.

Die in der Literatur oftmals beschriebenen Umsetzungen mit wässrigen Säuren¹⁷⁷ (HCl sowie *p*TsOH) führten entweder nur zu einer *N*-Boc-Entschützung oder zur Zersetzung des Moleküls **97**. Weiterhin erschwerend war vor allem, dass die Beobachtung des Reaktionsverlaufs mittels DC aufgrund nahezu identischer R_F-Werte von **97** und **98** nicht möglich war, weshalb

die Untersuchung der Reaktionsmischungen unter den genannten Bedingungen mittels ESI-MS erfolgen musste.

Als weitere Möglichkeit wurde die ebenfalls sehr häufig angewandte Entschützung von Acetalen mit Iod in Aceton¹⁷⁶ angewandt. Dies erlaubte zusätzliche Reaktionskontrolle mittels ¹H-NMR-Spektroskopie (Abb. 95).

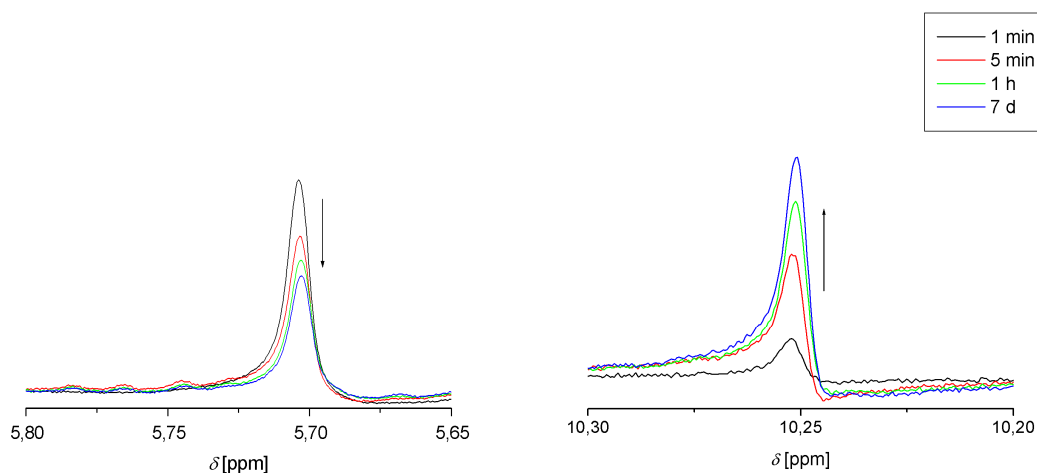


Abb. 95: ¹H-NMR-spektroskopische Beobachtung der Entschützung von **97** mit Iod in Aceton-*d*₆ bei 200 MHz. Im linken Spektrum ist die Abnahme des Signals des Acetal-Protons zu sehen. Das rechte Spektrum zeigt die Zunahme des Carbonyl-Protons der Verbindung **98**.

Obwohl ein auftretendes Signal im Bereich 10 ppm und damit das gewünschte Carbonyl-Signal bereits unmittelbar nach Zugabe von Iod beobachtet werden konnte, war auch nach erheblicher Verlängerung der Reaktionszeiten keine vollständige Umsetzung erfolgt.

Schließlich wurde auf die Lewis-Säure vermittelte Entschützung von Acetalen¹⁷⁷ zurückgegriffen. Zur Lösung des vorliegenden Problems konnte die von *Ranu*¹⁷⁸ entwickelte Methode, d.h. Verwendung katalytischer Mengen von InCl₃ in wässrigem Methanol, erfolgreich eingesetzt werden. Nach zweistündigem Rühren unter Rückfluß und säulenchromatographischer Aufreinigung konnte **98** in Ausbeuten von 60% isoliert werden. Es wurden keine weiteren Optimierungen der Reaktion durchgeführt, da lediglich eine Entfernung der *N*-Boc-Schutzgruppe durchgeführt werden musste, um die Zielverbindung **91** zu erhalten. Dies erfolgte nach der Standardmethode mit wässriger HCl in Dioxan.

3.5.2 Einbau von **91** in YFP

Der Einbau der modifizierten Aminosäure **91** in YFP (*yellow fluorescent protein*) erfolgte in Zusammenarbeit mit C. Deiml und E. Kaya. Wie sich anhand von Messungen mit dem Fluoreszenzmikroskop (Abb. 96) herausstellte, ist ein Einbau zwar prinzipiell möglich, allerdings war dieser unter den getesteten Bedingungen für die Gewinnung größerer Mengen an Protein nicht effizient genug. Das Projekt wurde deshalb nicht weiter verfolgt. Stattdessen sollte eine Proteinmodifizierung mittels Cu^I-katalysierter Click Chemie erfolgen.

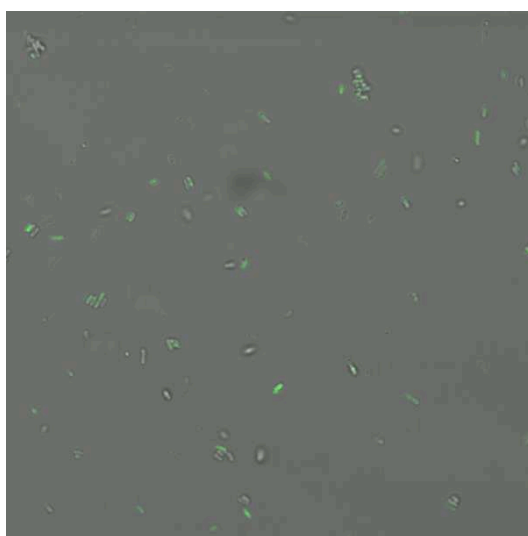


Abb. 96: Messungen mit dem Fluoreszenz-Mikroskop ergaben eine nicht ausreichende Effizienz des Einbaus des L-Lysin-Derivats **91** in YFP.

3.6 Proteinmodifizierung mittels Cu^I-katalysierter Click Chemie

3.6.1 Synthese eines azidmodifizierten 3-Pyrrolin-Derivats **99**

Für die postsynthetische Funktionalisierung von Proteinen mit Diol-Gruppen wurde auf das in der Arbeitsgruppe Carell bewährte Pyrrolin-System zurückgegriffen. Wirges¹⁷⁹ konnte zeigen, dass eine Periodat-Spaltung von zyklischen geminalen Diolen Dialdehyde lieferte, die in Wasser im Gleichgewicht mit einer zyklischen Halbacetalform stehen. Weitere Umsetzungen mit Methoxyamin lieferten die entsprechenden Oxime. Auf der Basis dieser Ergebnisse wurde ein azidmodifiziertes 3-Pyrrolin-Derivat **99** entworfen, das nach Click Chemie mit alkin-modifiziertem YFP zunächst diolmodifiziertes Protein liefern sollte. Durch oben beschriebene

analoge Umsetzungen sollten letztlich weitere selektive Proteinmodifizierungen möglich sein. Die Synthese von **99** ist schematisch in *Abb. 97* dargestellt.

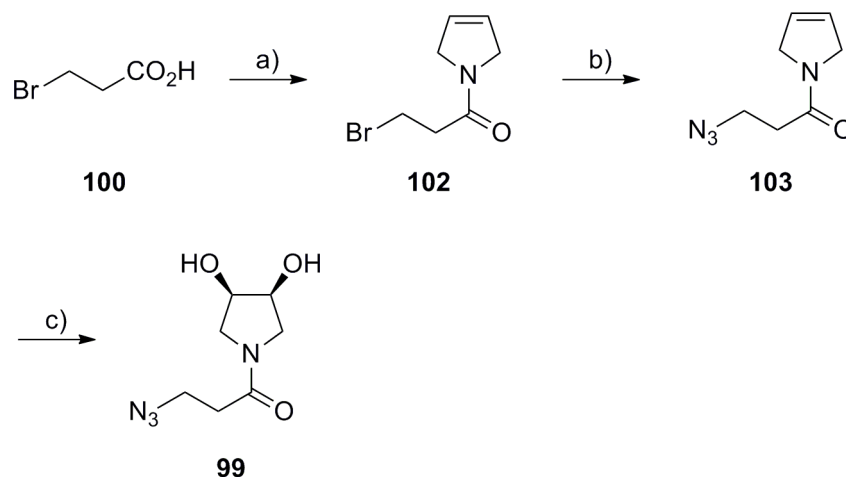


Abb. 97: Synthese von **99**; a) 3-Pyrrolidin **101**, DCC, CH_2Cl_2 , RT, 16h, 64%; b) NaN_3 , DMF, RT, 14h, 86%; c) K_2OsO_4 , NMO, $t\text{BuOH}$, H_2O , Aceton, RT, 19h, 82%.

Die einfach durchzuführende dreistufige Synthese gelang durch DCC-vermittelte Peptidkupplung von 3-Brompropionsäure **100** mit 3-Pyrrolidin **101** zum Bromid **102**, gefolgt von nukleophiler Substitution des Bromids mit NaN_3 in DMF, wodurch das Azid **103** erhalten wurde. Abschließende Bishydroxylierung der Doppelbindung durch Umsetzung mit K_2OsO_4 und NMO in einem Lösemittelgemisch aus $t\text{BuOH}$, Wasser und Aceton lieferte die Zielverbindung **99**. Generell wurden stets gute Ausbeuten von mehr als 80% erhalten. Lediglich die Peptidkupplung zu **102** verlief nur mit einer Ausbeute von etwa 60%. Es ist anzumerken, dass die Synthese nur in oben gezeigter Reihenfolge erfolgreich durchgeführt werden konnte. Die Peptidkupplung der ebenfalls dargestellten 3-Azidopropionsäure **104** mit 3-Pyrrolidin **101** führte unter Verwendung sämtlicher Kupplungsreagenzien (DCC, TBTU, HOBt sowie PyBop) nicht zum benötigten Azid **99** (ohne Abb.).

3.6.2 Click Chemie von Alkin-YFP und Azid 99

Zur Funktionalisierung mittels Click Chemie wurde in Zusammenarbeit mit *E. Kaya* ein einfach modifiziertes Alkin-YFP eingesetzt. Obwohl in der Arbeitsgruppe *Carell*¹⁸⁰ die Click-Reaktion mit diesem und auch mit einem dreifach modifizierten Alkin-YFP unter Verwendung diverser Zuckerazide durchgeführt werden konnte, war die Click-Reaktion mit dem Azid **100** nicht erfolgreich. Unter Verwendung der etablierten Bedingungen kam es zur Präzipitation des Proteins. Eine mögliche Ursache für das Misslingen kann in der Verwendung von Cu^I-Ionen liegen, von denen bekannt ist, dass sie bei Proteinmodifizierungen störend wirken. Nicht zuletzt aus diesem Grund werden kupferfreie Methoden intensiv untersucht.⁷⁹

4. Fazit und Ausblick

Im Hinblick auf die Realisierung neuer Metall-Basenpaare mit weichen Metallionen wie Pd^{2+} oder Metallionen, die unter Verwendung bisheriger Ligandoside nicht komplexiert werden konnten, etwa Au^+ , konnten wichtige Erkenntnisse gewonnen werden. So ist es prinzipiell möglich, mit *S*-Methyl-dithiocarbamaten eine vielseitige Verbindungsklasse in Oligonukleotide einzubauen. Diese Einheit kann verschiedene Metallionen komplexieren und entsprechende Metall-Basenpaare mit unterschiedlichen Bindungsgeometrien bilden. Das notwendige Kriterium der Kompatibilität zu Wasser ist dabei erfüllt. Bei Verwendung von Ag^+ erfolgt lineare Anordnung, bei Verwendung von Pd^{2+} oder Au^{3+} werden quadratisch-planare Dithiocarbamatkomplexe erhalten. Letzteres ist umso erfreulicher, da postsynthetische Umsetzungen von aminmodifizierten DNA-Strängen mit CS_2 nicht zu Dithiocarbamaten führten und auch die Bildung solcher DTC-Metall-Basenpaare auf diesem Weg nicht erfolgreich war.

Erste UV/Vis-Titrationen von *S*-Methyl-dithiocarbamatmodifizierten Oligonukleotiden mit Pd^{2+} und Au^{3+} zeigten vielversprechende Ergebnisse, wenngleich ein vollständiger Nachweis der erfolgreichen Bildung eines neuen schwefelhaltigen Metall-Basenpaares bislang nicht erbracht werden konnte. Problematisch war, dass nur sehr geringe Mengen der modifizierten DNA Stränge erhalten wurden. In erster Linie sind deshalb die Bedingungen der DNA-Synthese dahingehend zu verändern, dass die Bildung von unerwünschten Nebenprodukten vermieden oder zumindest erheblich reduziert wird. In diesem Sinne sind insbesondere die Bedingungen während des Oxidationsschritts zu verbessern. Hierzu könnten weitere chemische Oxidationsmittel getestet werden. Der Einbau könnte aber auch auf biologischem Weg, z.B. über die Triphosphate, erfolgen.

Das in dieser Arbeit synthetisierte *S*-Methyl-dithiocarbamat konnte zudem als Vorstufe zur Synthese eines Thioharnstoff-Liganden eingesetzt werden. Somit besteht eine weitere Möglichkeit zur Koordination von Pd^{2+} oder Au^+ sowie vieler weiterer Metallionen und in dessen Folge die Ausbildung verschiedener Bindungsgeometrien. Es ist jedoch analog des *S*-Methyl-dithiocarbamats davon auszugehen, dass während der DNA-Synthese, v.a. während des Oxidationsschritts, Nebenprodukte gebildet werden, so dass auch in diesem Fall Voruntersuchungen nötig sind, damit unter Umständen auf alternative Methoden zurückgegriffen werden kann.

Im Gegensatz dazu verlief der Einbau der Imidazolium-Funktionalität in Oligonukleotide vergleichsweise unproblematisch, auch wenn die Ausbeuten aufgrund sehr aufwändiger Aufreinigungen mittels HPLC sehr gering waren. Ein Metall-Basenpaar auf NHC-Basis, bei dem es sich um das erste metallorganische Basenpaar handeln würde, konnte nicht erhalten werden. Es können zwar basische Silbersalze zur *in situ* Deprotonierung sowie zur Koordination von Ag^+ eingesetzt werden, allerdings ist fraglich, ob diese Metall-Basenpaare stabil genug sind, um mittels ESI-MS nachgewiesen zu werden. Abschließend kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Kombination von DNA und NHC-basierender Metallorganik unvereinbar ist.

In Bezug auf neue DNA-Hybridkatalysatoren, bei deren Bildung ähnliche Probleme zu überwinden sind, besteht prinzipiell die alternative Möglichkeit bereits synthetisierte NHC-Komplexe durch Click Chemie an entsprechende Oligonukleotiden anzuknüpfen. Wasserlösliche NHC-Komplexe sind in der Literatur beschrieben.¹⁸¹ Mit der erfolgreichen Click-Anknüpfung des Thiamin Azids steht zudem eine Alternative für katalytische Anwendungen zur Verfügung.

Selektive Modifizierungen von Proteinen stellen große Herausforderungen dar. Die in dieser Arbeit synthetisierte aldehydmodifizierte Aminosäure konnte bereits auf Anhiob erfolgreich in YFP eingebaut werden. Möglicherweise kann die Effizienz des Einbaus durch veränderte Reaktionsbedingungen gesteigert werden.

5. Experimenteller Teil

5.1 Material und Methoden

Allgemeines: Alle chemischen Reaktionen wurden mit ofengetrockneten Glasgeräten durchgeführt. Bei hydrolyse- oder sauerstoffempfindlichen Reaktionen wurden die Glasgeräte zusätzlich dreimal säkularisiert, hier wurde stets unter Argon-Atmosphäre gearbeitet. Das Entgasen der Lösemittel erfolgte durch mindestens dreimaliges einfrieren des Lösemittels in flüssigem Stickstoff, antauen im Vakuum und fluten mit Argon. Lösemittel wurden entweder in einem mit Argon gefluteten Rotationsverdampfer oder direkt im Hochvakuum entfernt. Das Abdestillieren der Lösemittel *in vacuo* wurde am Membranpumpenvakuum mit einem Rotationsverdampfer VV2000 der Firma Heidolph durchgeführt. Wässrige Lösungen wurden in flüssigem Stickstoff eingefroren und mit einer Lyophille vom Typ *Alpha 2-4* der Firma Christ oder einer *Speed Vac* der Firmen Savant (*Speed Vac SC 110A* sowie *SPD 111V*) und Christ (*RVC 2-33R*, *CT-04-50-SR*, *CT-02-50-SR* oder *RVC 2-25*) im Ölpumpenvakuum eingengt. Molekularsieb (3 Å) für die DNA-Synthese wurde vor der Verwendung für 24 h im Sandbad bei 300 °C unter Hochvakuum ausgeheizt.

Chemikalien und Lösemittel: Chemikalien wurden von den Firmen ABCR, Acros, Alfa Aesar, Fluka oder SigmaAldrich in den gängigen Qualitäten puriss., p.a. sowie purum bezogen. Trockene Lösemittel (Wassergehalt < 50 ppm) wurden von Acros, Fluka oder Sigma Aldrich bezogen. Für Säulenchromatographie sowie Reaktionen, die keine trockenen Lösemittel erforderten, wurden technische Lösemittel eingesetzt, die vorher destilliert wurden. Lösemittel für HPLC-Experimente wurden in HPLC-Qualität von Merck, Sigma oder Fisher bezogen. Doppelt destilliertes Wasser wurde mit einer Milli-Q Plus Anlage hergestellt.

Dünnschichtchromatographie: Es wurden Aluminium-Fertigplatten *Kieselgel 60 F₂₅₄* (Schichtdicke 0.25 mm) der Firma Merck verwendet. Die Substanzen wurden unter UV-Licht ($\lambda = 254$ bzw. 366 nm) oder durch Anfärben mit Tauchreagenzien und anschließendem Erhitzen sichtbar gemacht oder nur durch Erhitzen. Als Anfärbereagenzien wurden Ninhydrin-Lösung (0.30 g Ninhydrin, 100 mL *n*BuOH, 3 mL Eisessig) sowie Anisaldehyd-Lösung (2.20 g Anisaldehyd, 2 mL konz. H₂SO₄, 100 mL Eisessig) verwendet.

Säulenchromatographie: Säulenchromatographie wurde nach der *Flash-Methode* mit N₂-Überdruck durchgeführt. Es wurde *Kieselgel 60* der Firma *Merck* mit einer Korngröße von 0.024–0.063 mm eingesetzt. Angaben der Lösemittelgemische beziehen sich auf Volumenanteile. Die Elution erfolgte bei Raumtemperatur.

HPL Chromatographie: Sämtliche Umkehrphasen Experimente wurden auf Anlagen der Hersteller *Merck-Hitachi* und *Waters* durchgeführt (beide sowohl analytisch als auch präparativ). *Merck-Hitachi*: L-7400 UV- und L-7420 UV/VIS-Detektor, L-7100 und L-7150 Pumpe, D-7200 Autosampler, L-7000 Interfacemodul und L-7612 bzw. ERC-3415 Entgaser. *Waters*: 2487 Dual λ Absorbance Detector, 1525 Binary HPLC Pump, 2695 Separations Module und 2996 Photodiode Array Detector. Das Säulenmaterial (VP 250/10 Nucleodur 100-5 C₁₈ und VP 250/10 Nucleodur 100-7C₁₈ für präparative Trennungen sowie CC 250-4 Nucleosil 120-3 C₁₈, CC-Nucleosil 100-3 C₁₈ und CC-Nucleodur 100-3C₁₈ für analytische Trennungen) stammte von *Macherey-Nagel*. Für analytische sowie präparative HPLC wurde folgendes Puffersystem verwendet: 0.1 M Triethylammoniumacetat (TEAA) in doppelt destilliertem Wasser, pH 7.0 (Puffer A) und 0.1 M TEAA in 80/20 CH₃CN/Wasser, pH 7.0 (Puffer B). Für HPLC nach enzymatischem Totalverdau wurde folgendes Puffersystem verwendet: 2 mM Ammoniumformiat in doppelt destilliertem Wasser, pH 5.5 (Puffer A) und 2 mM Ammoniumformiat in 80/20 CH₃CN/Wasser, pH 5.5 (Puffer B).

CD Spektroskopie: Messungen wurden in Quartzglas Küvetten (1 cm) mit einem *Jasco J-810 Spectropolarimeter* durchgeführt. Als Kühleinheit diente eine *Haake WKL 26*. Jede Messung bestand aus 10 Durchläufen, wobei vor der Messung der jeweiligen Probe eine entsprechende Blindprobe gemessen wurde. Der Messbereich erstreckte sich von 800 nm bis 200 nm, die Scan-Geschwindigkeit betrug 200 nm/s.

Kernresonanzspektroskopie: ¹H-Kernresonanzspektren, ¹⁹F-Kernresonanzspektren sowie ³¹P-Kernresonanzspektren (¹H-NMR, ¹⁹F-NMR ³¹P-NMR) wurden bei Raumtemperatur mit den Geräten *VarianOxford200* und *VarianMercury-200VX* aufgenommen. Kernresonanzspektren höherer Feldstärke sowie ¹³C-Kernresonanzspektren (¹³C-NMR) wurden, falls nicht anders vermerkt, bei Raumtemperatur mit den Geräten *BrukerAC300*, *VarianXL400* sowie *BrukerAMX600* gemessen. In Klammern sind die benutzten Messfrequenzen in MHz und das jeweilige Lösemittel angegeben. Chemische Verschiebungen δ für die ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektren sind in ppm relativ zu Tetramethylsilan ($\delta = 0$), für ¹⁹F-Spektren relativ zu

CFCl_3 und für die ^{31}P -Spektren relativ zu Phosphorsäure (85 % in Wasser, $\delta = 0$) angegeben. Die entsprechenden Lösemittelsignale CHCl_3 ($\delta = 7.26$) in CDCl_3 , $\text{DMSO}-d_5$ ($\delta = 2.50$) in $\text{DMSO}-d_6$, HDO ($\delta = 4.65$) in D_2O , $(\text{CD}_3)(\text{CD}_2\text{H})\text{CO}$ ($\delta = 2.05$) in $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, CD_2HCN ($\delta = 1.94$) in CD_3CN sowie CD_2HOD ($\delta = 3.31$) in CD_3OD dienten als interne Referenz im Falle von ^1H -Kernresonanzspektren, bei ^{13}C -Kernresonanzspektren wurden folgende Werte als interne Referenz verwendet: CHCl_3 ($\delta = 77.2$) in CDCl_3 , $\text{DMSO}-d_5$ ($\delta = 39.5$) in $\text{DMSO}-d_6$, $(\text{CD}_3)(\text{CD}_2\text{H})\text{CO}$ ($\delta = 29.8$) in $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, CD_2HCN ($\delta = 1.3$) in CD_3CN sowie CH_3OH ($\delta = 49.0$) in CD_3OD . Die Kopplungskonstanten (J) werden in Hertz (Hz) angegeben. Für die Multiplizitäten werden folgende Abkürzungen benutzt: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett) und m (Multiplett) sowie Kombinationen davon. Breite Signale werden zusätzlich durch die Abkürzung br beschrieben. Zur Zuordnung der Signale wurden, falls dies erforderlich war, HSQC-, COSY- sowie NOESY-Spektren aufgenommen. Die Spektren wurden mit *MestReNova* ausgewertet.

Infrarotspektroskopie: Die Infrarot-Spektren (IR) wurden an einem *Perkin-Elmer 281* Spektrometer mit ATR Einheit sowie einem *Bruker IFS 88* und *Bruker IFS 25* aufgenommen. Die Proben wurden als Reinsubstanz oder als KBr-Pressling vermessen. Für Messungen im FIR Bereich wurden PE-Pressling verwandt. Die Absorption ist in Wellenzahlen [cm^{-1}] angegeben. Der Aufnahmebereich erstreckte sich von 20 cm^{-1} bis 4000 cm^{-1} . Zur Charakterisierung der Banden wurden die Abkürzungen vs (*very strong*), s (*strong*), m (*medium*), vw (*very weak*), w (*weak*) sowie br (*broad*) verwendet.

Massenspektrometrie: Messungen wurden auf den Geräten *Finnigan MAT 95 Q* und *Jeol MStation* (EI, CI, FAB, FIB) durchgeführt. Die Auflösung war bei Niederauflösung auf etwa 1000 und bei Hochauflösung auf etwa 5000 eingestellt. Elektronenstoß Ionisation (EI) und Chemische Ionisation (CI) wurde bei einer Quellentemperatur von $250\text{ }^\circ\text{C}$ und einer Elektronenenergie von 70 eV durchgeführt. Für CI wurde Isobutan als Reaktandgas bei einem Quellenaussendruck von $2 \cdot 10^{-4}$ bar verwendet. FAB und FIB Proben wurden durch Beschuss mit 8 kV schnellen Xe-Atomen (FAB) oder 20 kV schnellen Cs-Ionen (FIB) in Nitrobenzylalkohol- oder Glycerin-Matrix auf einem Kupfer-Target ionisiert. Gaschromatographie (GC/EI und GC/CI) wurde an einem *Varian 3400* Gaschromatographen mit split-splitlos Injektor und *CTC Autosampler A200S* durchgeführt. Für die Trennung wurde eine *CS Supreme-5 Kapillartrennsäule* eingesetzt. Trägergas war He mit einer Flussrate von etwa 1.5 mL/min . Die Temperatur des Injektors und der direkten Kopplung zum Massenspektrometer betrug

250 °C. Der Säulenofen wurde von 50 °C bis 300 °C isotherm mit einer Rate von 25 °C/min geheizt. Jeweils 0.1 bis 1 µL Probenlösung wurde mit einem Split von 1:10 injiziert. Elektrospray Ionisation (ESI) Messungen wurden an einem *Thermo Finnigan LTQ-FT* mit einer IonMax Ionenquelle durchgeführt. Die Auflösung war auf 100000 bei m/z 400 eingestellt. Die Spraykapillarenspannung betrug 4 kV, die Heizkapillarentemperatur 250 °C und der Stickstoff Schießgasfluss 25 Einheiten. MALDI-TOF-Spektren wurden auf einem Bruker *Autoflex II* gemessen. Es wurde eine Matrix bestehend aus 3-Hydroxypicolinsäure (50 mg), Ammoniumhydrogencitrat (10 mg) und 15-Krone-5 (10 µL), gelöst in einer 1:1 Mischung aus Wasser und Acetonitril (1 mL), verwendet. Salzhaltige Proben wurden vor der Messung zusätzlich mit Membranfiltern (Porengröße 0.025 µm) der Firma *Millipore*, oder durch C₁₈-SepPac Kartuschen der Firma *Waters* entsalzt.

UV/Vis Spektroskopie: UV/Vis-Spektren wurden mit einem *Varian Cary 100 Bio* mit *Cary Temperature Controller* und *Sample Transport Accessory* mit *Multi Cell Block* sowie einem *Jasco-V-650 Spectrophotometer* mit *Thermo Scientific WKL 26* Kühleinheit gemessen. Der Messbereich erstreckte sich von 800 nm bis 200 nm, die Scan-Geschwindigkeit betrug 400 nm/min. Beide Geräte wurden auch zur Bestimmung der DNA-Schmelzkurven verwendet (siehe dort).

Schmelzpunktbestimmung: Die Schmelzpunktbestimmungen erfolgten mit einem *Büchi MeltingPoint B-540* sowie einem *Büchi 530*. Dabei wurde zunächst der grobe Schmelzbereich ermittelt, der dann mit einem Temperaturgradienten von 1 °C pro Minute genauer bestimmt wurde.

5.2 Synthese der Oligonukleotide und biochemische Arbeiten

Zur Herstellung künstlicher Oligonukleotide wurde die von *Letsinger* und *Caruthers* entwickelte Phosphoramidit Methode eingesetzt. Die Vorteile dieser Methode liegen in der schnellen Durchführung, geringem Arbeitsaufwand, bedingt durch Automation, in der guten Reproduzierbarkeit sowie den in der Regel erhaltenen guten Ausbeuten. Ferner können die für die Synthese benötigten Reagenzien und Materialien kommerziell erworben werden, wodurch der Arbeitsaufwand weiter reduziert werden kann. Das Prinzip der Phosphoramidit Methode ist schematisch in *Abb. 98* gezeigt. Im Wesentlichen werden vier Schritte pro Synthesekyklus durchlaufen.

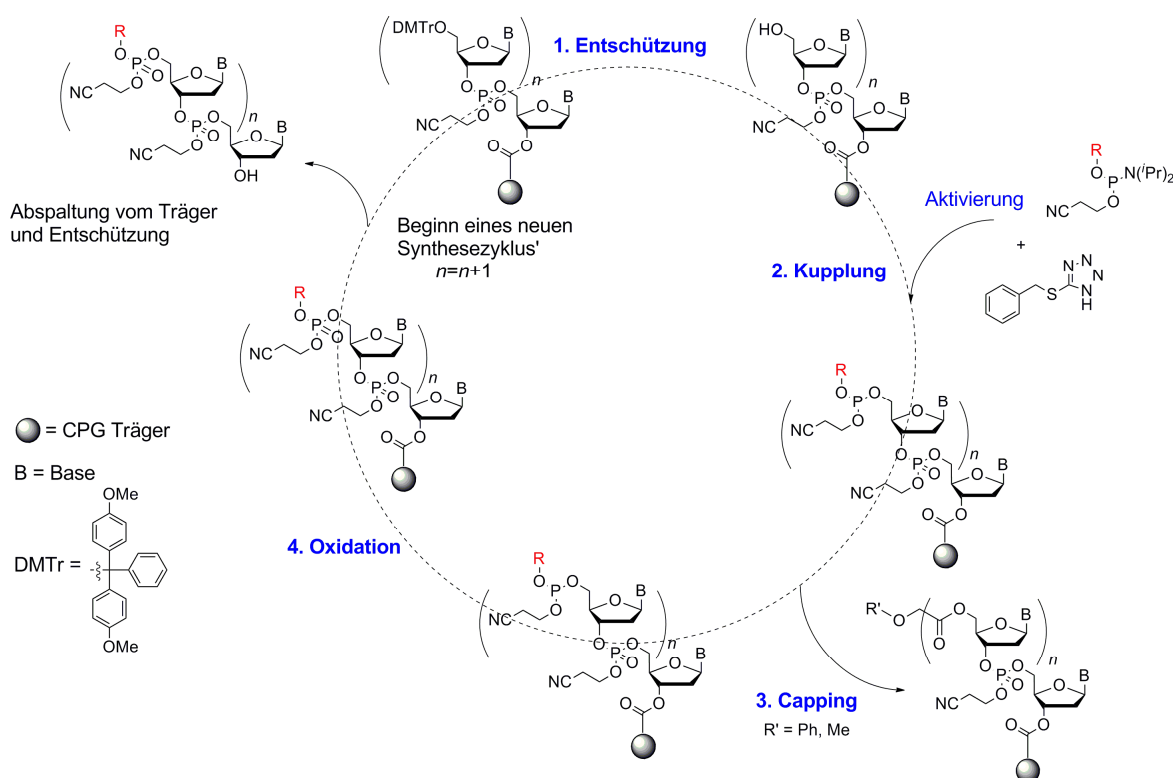


Abb. 98: Schematische Darstellung des DNA-Synthesekyklus.

Im ersten Schritt wird ein festphasengebundenes Nukleotid, mit dem die Synthese begonnen werden soll, durch Behandlung mit Dichloressigsäure in der 5'-Position zum freien Alkohol

entschützt. Im zweiten Schritt findet die Kupplung statt. Hierbei werden durch vorangegangene Aktivierung des Phosphoramidits mit einem Tetrazol-Derivat, beispielsweise BTT, Reaktivester gebildet, die mit nukleophilen OH-Gruppen zu Phosphittriestern reagieren. Da stets ein geringer Teil an OH-Gruppen nicht reagiert hat, ist es in einem dritten Schritt erforderlich, die entsprechenden Funktionen zu verestern und damit aus dem Syntheszyklus zu entfernen, um unerwünschte Verzweigungen der Oligonukleotid-Stränge zu unterbinden (*Capping*). Gängige Reagenzien sind Ac_2O oder Pac_2O . Im letzten Schritt findet die Oxidation der Phosphittriestern zum Phosphotriester statt. In aller Regel werden wässrige Lösungen von Iod in Gegenwart einer Base (z.B. 2,6-Lutidin) verwendet, um entstehendes HI abzufangen. Nach der Oxidation von P^{III} zu P^{V} erfolgt – falls dies erwünscht ist – erneute Entschützung der 5'-Position mit Dichloressigsäure und ein weiterer Syntheszyklus kann durchlaufen werden. Soll die Synthese beendet werden, erfolgt basenvermittelte Entschützung am Phosphotriester und an den Nukleobasen (Abb. 99) sowie Entfernung vom Trägermaterial. Dies geschieht durch Verwendung von konz. aq. NH_3 oder K_2CO_3 (Ultramild®-Synthese).

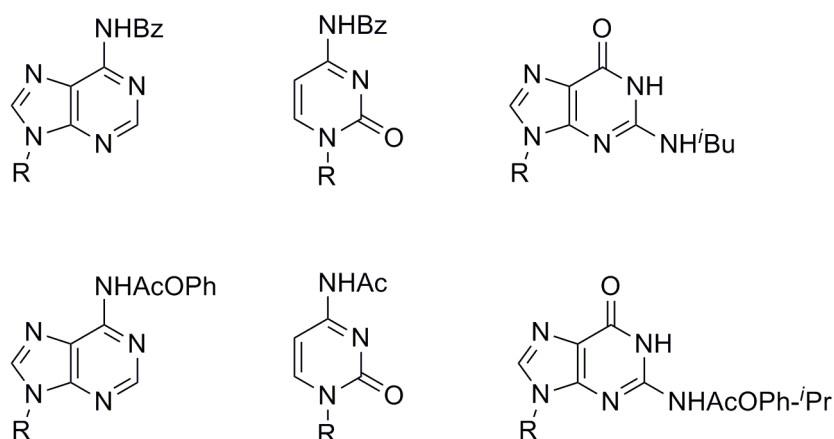


Abb. 99: Schutzgruppen der Nukleobasen (von links nach rechts: A, C, G; R steht für den Zucker-Rest) in der DNA-Synthese. Obere Reihe: Schutzgruppen für die Standardbedingungen. Untere Reihe: Schutzgruppen für die Ultramild®-Synthese.

Die modifizierten Oligonukleotide wurden mit einem *Expedite™ 8900 Nucleic Acid Synthesis System* der Firma *Applied Biosystems* synthetisiert. In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Phosphoramidite in Oligonukleotide verschiedener Sequenzen inkorporiert (Abb. 100).

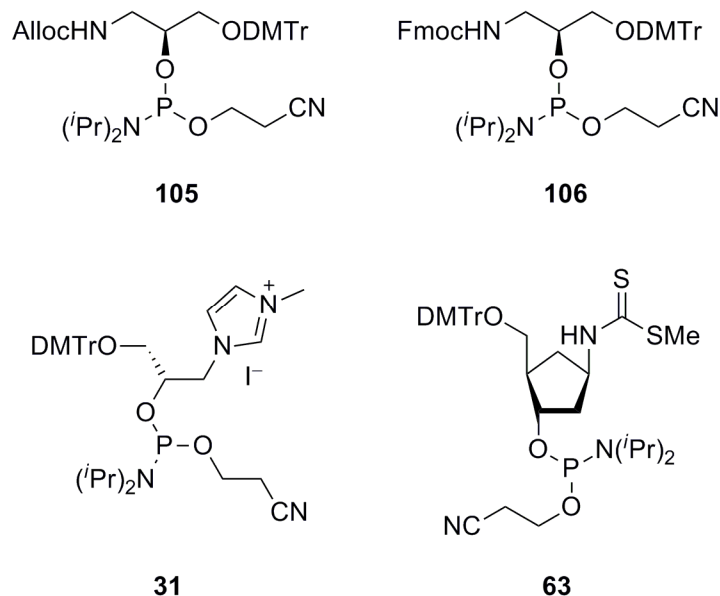


Abb. 100: Übersicht der synthetisierten Phosphoramidite für die Oligonukleotid-Synthese.

Die Sequenzen für Phosphoramidit **31** lauten:

3'-ATG-TTG-TXA-TTA-CAC-5'

3'-GTG-TAA-TXA-CAA-CAT-5'

3'-ATG-CTX-CGT-GA-5'

3'-TCA-CGX-AGC-AT-5'

Die Sequenzen für Phosphoramidite **63**, **105** und **106** lauten:

3'-TCA-CGX-AGC-AT-5'

3'-ATG-CTX-CGT-GA-5'

Die Synthesemaßstäbe betragen 0.2 μM sowie 1.0 μM . Sämtliche Phosphoramidite für die Standard- sowie Ultramild[®]-Synthese wurden von *Glen Research* bezogen, ebenso das mit nukleotidbeladene CPG-Trägermaterial. Das als Kupplungsreagenz eingesetzte Benzylthio-tetrazol (BTT) wurde nach der im Arbeitskreis *Carell* bewährten Methode synthetisiert¹⁸² und vor Verwenden fein zermörsert über Nacht am Hochvakuum getrocknet. Phenoxyessigsäure-anhydrid (für die Ultramild[®]-Synthese) wurde von *TCI* bezogen. Alle sonstigen Chemikalien stammten von *Sigma Aldrich* sowie *Fluka* und waren von höchster Reinheit. Sowohl die Phosphoramidite als auch BTT wurden in Acetonitril gelöst, das von den Firmen *Roth* und

Sigma Aldrich in den Qualitäten „Zur DNA-Synthese“ bezogen wurde (Wassergehalt ≤ 10 ppm). Nachfolgend sind die Konzentrationen der eingesetzten Reagenzien aufgeführt:

- Phosphoramidite der Standardbasen sowie Ultramild[®]-Phosphoramidite: 0.1 M in CH₃CN über Molekularsieb (3 Å).
- Phosphoramidite **31**, **63**, **105**, **106**: 0.1 M bis 0.3 M in CH₃CN über Molsieb (3 Å).
- Aktivator (BTT): 0.25 M in CH₃CN über Molsieb (3 Å).
- Cap A: Essigsäureanhydrid (20%), 2,6-Lutidin (30%) in CH₃CN (50%) für Phosphoramidit **31**, **105** und **106** sowie Phenoxyessigsäureanhydrid (0.5 M in 2,6-Lutidin und CH₃CN 1:9) für Phosphoramidit **63**.
- Cap B: *N*-Methylimidazol (20%) in CH₃CN (80%) für **31**, **63**, **105**, **106**.
- Entschützung: 3% Dichloressigsäure (DCA) in Toluol.
- Oxidation: 0.025 M I₂ in CH₃CN (65%), 2,6-Lutidin (5%) und H₂O (30%) für Phosphoramidite **31**, **105** und **106** sowie 0.02 M I₂ in THF (89.6%), Pyridin (0.4%) und H₂O (10%) für Phosphoramidit **63**.
- Abspaltung vom Träger sowie Entschützung: konz. NH₃ in EtOH (3:1) für Phosphoramidit **31**, **105** und **106** sowie 0.05 M K₂CO₃ in MeOH für Phosphoramidit **63**.

Die Kupplungsbedingungen der kommerziellen Phosphoramidite wurden entsprechend den Syntheseprotokollen des Herstellers übernommen. Davon abweichend wurden die Kupplungszeiten der Phosphoramidite **31**, **105** und **106** auf 10 min erhöht. Bei allen in dieser Arbeit synthetisierten Oligonukleotide wurde die letzte DMTr-Schutzgruppe am Synthesizer entfernt (*DMTr-Off* Synthese). Die Oligonukleotide wurden mit den oben genannten Reagenzien bei Raumtemperatur für 16 h (Phosphoramidite **31**, **105** und **106**) sowie 4 h (Phosphoramidit **63**) vom Trägermaterial abgespalten und entschützt. Im Anschluss wurden die jeweiligen Lösemittel in der *Speed Vac* entfernt. Zur Bestimmung der Konzentration der unaufgereinigten Oligonukleotide, welche mit einem *NanoDrop ND 1000* Photometer der Firma *peQLab* durchgeführt wurde sowie für analytische und präparative HPLC wurden die Proben in doppelt destilliertem Wasser aufgenommen. Die Aufreinigung mittels HPLC erfolgte unter Verwendung von TEAA-Puffer (0.1 M) in doppelt destilliertem Wasser, pH 7.0 (Puffer A) sowie 80/20 CH₃CN/Wasser, pH 7.0 (Puffer B) mit Gradienten von 0 → 30 % Puffer B in 45 min sowie 0 → 40 % Puffer B in 45 min bei einer Flussrate von 5 mL/min. Die Fraktionen wurden durch analytische HPLC-Gradienten analog präparativer HPLC auf Reinheit geprüft

und mit MALDI-TOF-Spektrometrie analysiert. Gereinigte Oligonukleotide wurde anschließend *Sep-Pak C18* Kartuschen der Firma *Waters* entsalzt. Diese wurden zuerst mit CH_3CN (5 mL) aktiviert und mit doppelt destilliertem Wasser (10 mL) äquilibriert. Nach dem Auftragen der Probe wurde mit doppelt destilliertem Wasser (5 mL) gespült und mit $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, 5 mL) eluiert. Die Lösemittel wurden an der *Speed Vac* und an der *Lyo-phille* entfernt. Die Proben wurden schließlich bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$ gelagert. Käuflich erworbene Oligonukleotide stammten von *Metabion*. Zur Bestimmung der Konzentration mittels *Nano-Drop* wurden die entsalzten Oligonukleotide in doppelt destilliertem Wasser (500 μL) gelöst. 1.5 μL davon wurden bei 260 nm gemessen und die Konzentration über die errechneten Extinktionskoeffizienten ermittelt, wobei die Werte der Extinktionskoeffizienten aller Standardbasen der Literatur entnommen wurden.¹⁸³

Herstellung von aminmodifizierten Oligonukleotiden

Die Herstellung aminmodifizierter Oligonukleotide unter Verwendung der Phosphoramidite **105** und **106** gelang wie oben beschrieben. *Abb. 101* zeigt die zugehörigen analytischen Daten. Aufgrund der leichteren Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung mit NH_4OH über Nacht wurde **105** bevorzugt eingesetzt.

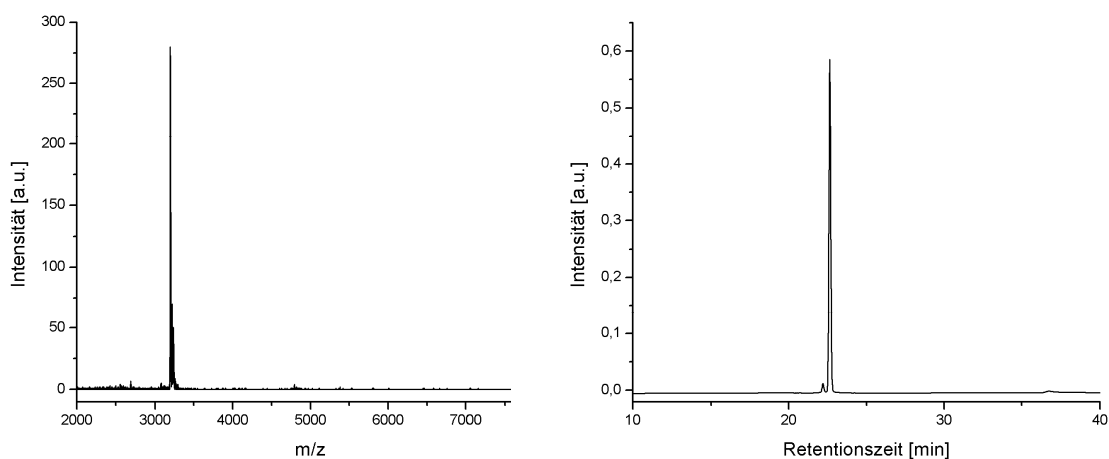


Abb. 101: MALDI-TOF-Spektrum von aminmodifizierter DNA unter Verwendung des Phosphoramidits **105** nach vollständiger Entschützung (links, ber. für $[\text{M}-\text{H}]^-$ 3185; gef. 3195) sowie HPL-Chromatogramm des gereinigten Strangs (rechts).

Schmelzkurven: Es wurden Messungen mit DNA-Konzentrationen von 3 μM in wässrigen Salzlösungen (150 mM NaCl und 10 mM Tris/HCl, pH 7.4) durchgeführt. Die für die Messungen verwendeten Quarzküvetten waren von *Helma* und hatten eine Schichtdecke von 10 mm. Die Probenlösung in der Küvette wurde mit etwas Dimethylpolysiloxan überschichtet, um ein Verdampfen oder Einkondensieren von Wasser während der Messungen zu verhindern. Kontinuierliches Spülen des Probenraums mit einem leichten Stickstoffstrom verhinderte ein Beschlagen der Küvetten während der Messungen. Es wurden je fünf aufeinanderfolgende Messungen im Temperaturbereich von 5 °C \rightarrow 85 °C sowie 85 °C \rightarrow 5 °C mit einem Temperaturgradienten von 0.5 °C/min bei den Wellenlängen 260 nm und 320 nm durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgte mit *Microcal Origin*. Dazu wurde zunächst der gemessene Hintergrund (320 nm) von jeder Kurve abgezogen, anschließend wurde über alle Kurven gemittelt. Die gemittelte Kurve wurde durch ein Polynom 9. Ordnung approximiert und der Schmelzpunkt schließlich aus der Nullstelle der 2. Ableitung der Näherungsfunktion ermittelt.

Enzymatischer Totalverdau: Enzymreaktionen wurden in Reaktionsgefäßen von Eppendorf (0.2 mL und 1.5 mL) durchgeführt. Enzyme wurden bei -20 °C gelagert und vor Zugabe auf 0 °C erwärmt. Reaktionstemperaturen wurden unter Verwendung von einen *Thermomixer comfort* von Eppendorf konstant gehalten. Die Oligonukleotide (20 μM , 90 μL) wurden mit 10 μL Verdauopuffer (200 mM Tris/HCl, 100 mM MgCl_2 , 1 M NaCl, pH = 9) und snake venom Phosphodiesterase I (*Crotalus adamanteus venom*) (0.5 units) für 6 h bei 37 °C inkubiert. Im Anschluß wurde *calf intestinal* Phosphatase (CIP) (5 units) zugegeben und weitere 30 min bei 37 °C inkubiert. Abschließend wurde die Mischung für 15 min bei 9000 U/min zentrifugiert und per HPLC sowie LC-ESI-MS analysiert. Für die HPLC wurde eine *Uptisphere 3 HDO* (150 \times 2.1 mm) von *Interchim* verwendet. Die eingesetzten Puffer waren 2 mM NH_4HCO_2 in H_2O (Puffer A) und 2 mM NH_4HCO_2 in $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 4:1 (Puffer B). Der Gradient betrug 0 \rightarrow 12 min, 0 \rightarrow 3% B; 12 \rightarrow 60 min, 3% \rightarrow 60% B; 60 \rightarrow 62 min, 60% \rightarrow 100% B; 62 \rightarrow 80 min, 100% B; 80 \rightarrow 90 min, 100% \rightarrow 0% B; 90 \rightarrow 95 min, 0% B bei einem Fluss von 0.15 mL/min. LC-ESI-MS Messungen wurden mit einem *LT-FT ICR*-Massenspektrometer von *Thermo Finnigan*, kombiniert mit einer *Surveyor* MS-Pumpe, durchgeführt. Die verwendeten Puffer und Gradienten waren dieselben wie bei der HPLC-Analytik. Die Säulentemperatur wurde auf 30 °C gehalten. Das Massenspektrometer wurde im Negativmodus mit einer *ion-spray* Spannung von 4 kV, einer Kapillartemperatur von 200 °C sowie einem *ion source gas* Fluss von 40 betrieben. Die MS/MS Kollisionsenergie betrug 35 eV.

Click-Chemie der Azide **38**, **40** und **46** mit alkinmodifizierten Oligonukleotiden

Alkinmodifizierte Oligonukleotide wurden von Mitgliedern der Arbeitsgruppe *Carell* zur Verfügung gestellt (Sequenzen: 3'-GCG-CTT-ACX-TGT-CGC-G-5' sowie 3'-GCG-CTT-ACX-XGT-CGC-G-5'). Für CuAAC-Reaktionen wurde zunächst eine frisch hergestellte Lösung von CuBr (100 mM in DMSO, 2.5 μ L) zu einer frisch hergestellten Lösung von TBTA (100 mM in DMSO, 2.5 μ L) gegeben. Diese Mischung wurde geschüttelt und zu einer bereits vorliegenden Mischung, bestehend aus Lösungen der entsprechenden Azide (100 mM in DMSO, 20 μ L) sowie alkinmodifizierter DNA (10 nmol in ddH₂O, 30 μ L) gegeben. Die Reaktionsmischungen wurden bei Temperaturen zwischen 25 °C und 40 °C für 3 bis 24 h geschüttelt. Für MALDI-TOF-Messungen wurden etwa 10 μ L der Reaktionslösungen abgenommen und mit *Millipore* Membranen entsalzt. Für weiterführende HPLC-Experimente oder MALDI-TOF-Messungen wurden Ethanol-Fällungen durchgeführt. Dazu wurde nach beendeter Reaktion NaOAc-Lösung (0.3 M, 125 μ L) zugegeben, geschüttelt und anschließend abs. Ethanol (1 mL) zugefügt. Die Mischungen wurden entweder für 72 h auf –20 °C oder 24 h auf –80 °C gekühlt. Es wurde mit *Eppendorf miniSpin* Geräten zentrifugiert (15 min bei 13000 Umdrehungen/min) und der Überstand abdekantiert. Die erhaltenen DNA-Pellets wurden mit eiskaltem Ethanol (70%) gewaschen, an Luft getrocknet und in ddH₂O aufgenommen.

Synthese von azidmodifizierten Oligonukleotiden und Click Chemie mit Alkin **39**

Die Synthese azidmodifizierter Oligonukleotide gelang sowohl postsynthetisch als auch direkt *via* H-Phosphonat-Chemie. Bei der postsynthetischen Variante wurde ein kommerziell erhältlicher Amino-Linker, der von *Glen Research* bezogen wurde nach der Phosphoramidit-Methode unter Verwendung der Standardbedingungen am 5'-Ende eines 18-mers inkorporiert (*Abb. 102*). Die mittels HPLC gereinigten und lyophilisierten Stränge (10.98 nmol) wurden mit Na₂CO₃/NaHCO₃-Puffer (pH 9, 0.25 M, 45 μ L) sowie Aktivester **107** (10.98 μ mol, siehe 5.3.11) in DMSO (13.5 μ L) versetzt und 17 h bei 25 °C inkubiert. Überschüssiges Ausgangsmaterial wurde mittels *size-exclusion* Chromatographie unter Verwendung einer *PD-10* Säule entfernt. Im Anschluss erfolgte Aufreinigung mittels HPLC.

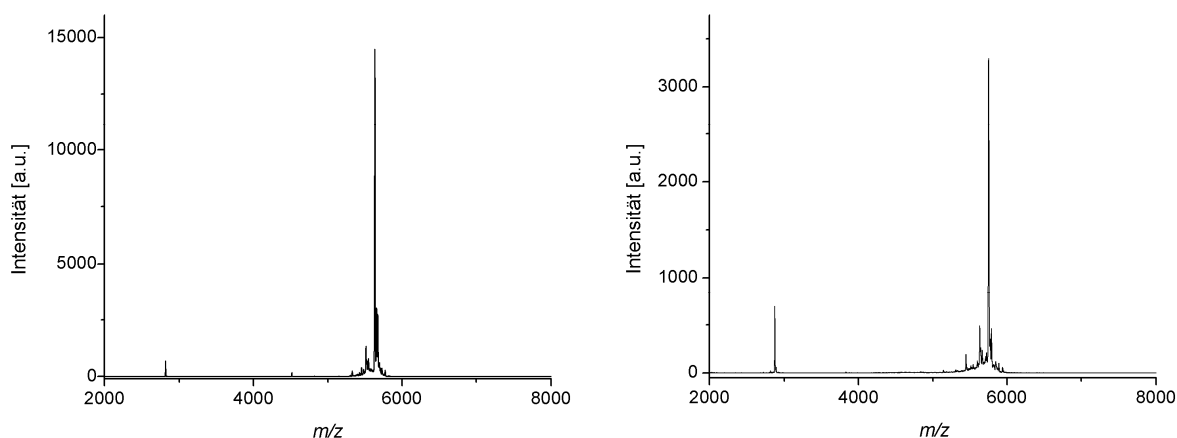


Abb. 102: MALDI-TOF-Spektren von aminmodifizierter DNA vor (linkes Spektrum, ber. für $[M-H]^-$ 5629; gef. 5628) und nach Umsetzung mit Aktivester **107** zu azidmodifizierter DNA (rechtes Spektrum, ber. für $[M-H]^-$ 5754; gef. 5758).

DNA-Synthesen *via* H-Phosphonat-Chemie mit Verbindung **108** (Abb. 103) erfolgten gemäß den im Arbeitskreis *Carell* etablierten Protokollen. Click-Experimente wurden analog der oben beschriebenen Methode durchgeführt.

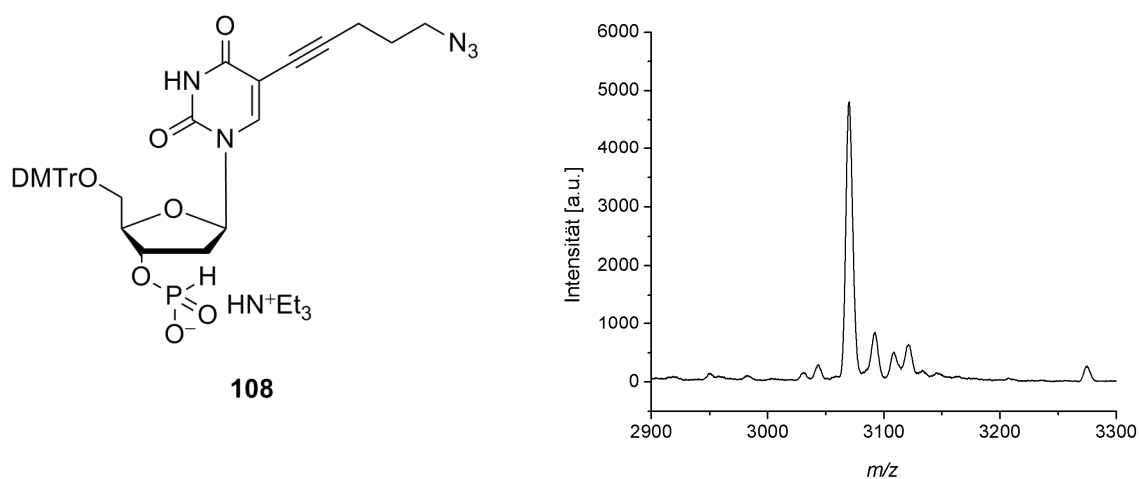


Abb. 103: H-Phosphonat **108** für die DNA-Synthese (links) und MALDI-TOF-Spektrum des synthetisierten DNA-Strangs (Sequenz: 3'-TAC-ATC-GTT-X-5'; ber. für $[M-H]^-$ 3084, gef. 3079).

Click Experimente wurden ausschließlich mit azidmodifizierter DNA durchgeführt, die durch postsynthetische Modifizierung von Amino-DNA erhalten wurde. Die Durchführung erfolgte analog der Click Chemie mit Alkin-DNA.

Gold-katalysierte Modifizierung von alkinhaltigen Oligonukleotiden

Die Gold-katalysierte Modifizierung von Oligonukleotiden gemäß *Abb. 104* gelang sowohl unter Verwendung eines Gold^{III}-Salen Komplexes **109** als auch durch Verwendung einer wässrigen Lösung von AuBr₃.

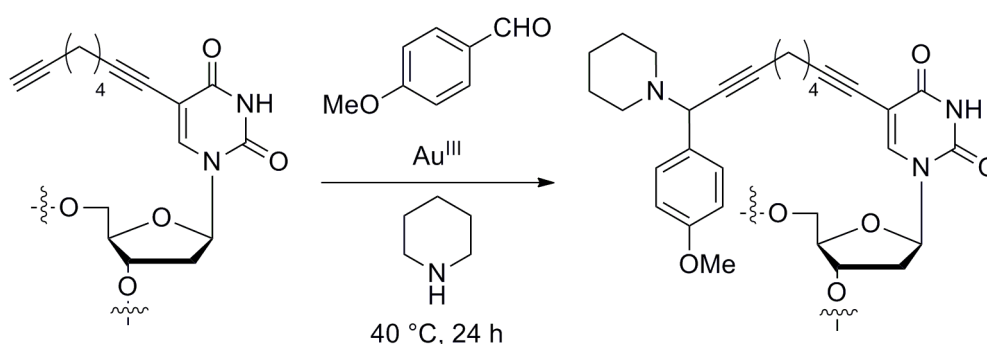


Abb. 104: Schematische Darstellung der Gold-katalysierten Modifizierung von alkinhaltigen Oligonukleotiden.

Im Falle von AuBr₃ wurden alkinmodifizierte Oligonukleotide (6 µL, 2 nmol, 1.00 eq) mit *p*-Anisaldehyd (0.16 µL, 1.33 nmol, 0.67 eq), Piperidin (0.15 µL, 1.46 nmol, 0.73 eq) und AuBr₃ (1 mM, 2 µL, 2.00 nmol, 1.00 eq) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde sorgfältig mit Argon gespült und 24 h bei 40 °C geschüttelt. Nach Entsalzen über Millipore-Membranen erfolgten unmittelbare MALDI-TOF-Messungen (*Abb. 105*).

Versuche mit Gold^{III}-Salen Komplex **109** wurden analog durchgeführt. Aufgrund der schlechten Löslichkeit erfolgte die Zugabe jedoch in fester Form und somit in hohem Überschuss.

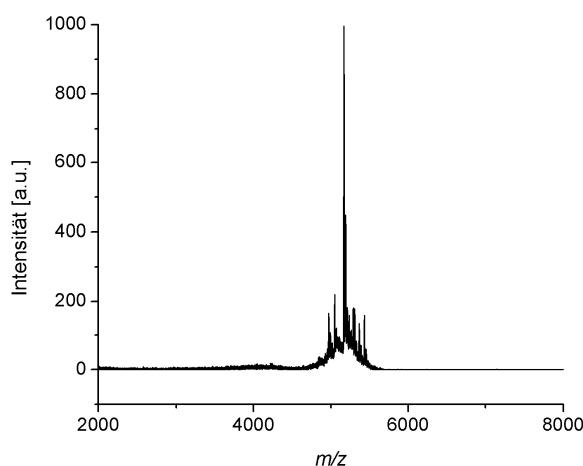
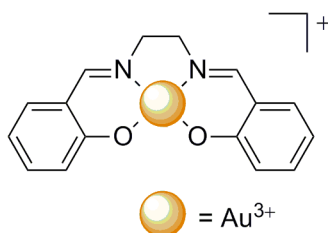


Abb. 105: MALDI-TOF-Spektrum des Rohprodukts nach Umsetzung von alkinmodifizierter DNA (Masse 4951) mit Piperidin, *p*-Anisaldehyd und AuBr₃. Ber. für [M-H]⁻ 5154, gef. 5168.

Synthese von **109**¹⁸⁴



Eine Suspension von K[AuCl₄] (51 mg, 0.13 mmol, 1.00 eq) in CH₂Cl₂ (6.8 mL) wurde mit einer Lösung von NH₄PF₆ (143 mg, 0.88 mmol, 6.50 eq) in EtOH (6.8 mL) versetzt. Die erhaltene gelbe Lösung wurde zu einer Lösung von Salen (181 mg, 0.68 mmol, 5.00 eq) in CH₂Cl₂ (6.8 mL) gegeben und 20 min bei 100 °C unter Rückfluss gerührt. Die orange Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt und mit Isohexan und Ether versetzt (je 10 mL). Das erhaltene orange Präzipitat wurde mit CHCl₃ (15 mL) gewaschen und *in vacuo* getrocknet. Der Komplex **109** lag als PF₆⁻-Salz vor.

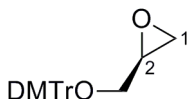
HRMS (ESI⁺): *m/z* (%): 165.10 (23, C₉H₁₃N₂O), 269.13 (8, C₁₆H₁₇N₂O₂), 395.02 (15, C₁₂H₈NO₂Au), 463.07 (100, [M]⁺; ber. für [C₁₆H₁₄N₂O₂Au]⁺ 463.0715, gef. 463.0712 [M]⁺);

HRMS (ESI⁻): *m/z* (%): 144.96 (68, PF₆⁻).

5.3 Synthesevorschriften

5.3.1 Synthese des Imidazolium-Phosphoramidits (**31**)

5.3.1.1 (*S*)-2-((Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)oxiran (**33**)⁵³

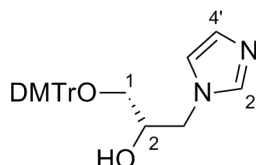


Zu trockenem CH_2Cl_2 (34 mL) wurde (*R*)-(+)-Glycidol **32** (1.00 mL, 15.10 mmol, 1.00 eq) gegeben und die farblose Lösung mit NEt_3 (5.40 mL, 40.70 mmol, 2.70 eq) versetzt. DMTrCl (6.45 g, 19.00 mmol, 1.26 eq) wurde portionsweise innerhalb von 15 min zugegeben. Die entstandene orange Suspension rührte 21 h bei Raumtemperatur (DC-Kontrolle Isohexan/EtOAc 10:1) und wurde im Anschluss mit ges. NaHCO_3 -Lösung (20 mL) versetzt. Die organische Phase wurde *in vacuo* eingeeengt und mit EtOAc (75 mL) versetzt. Nach dreimaligem Waschen mit ges. NaHCO_3 -Lösung (150 mL) wurde über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (SiO_2 , Isohexan/EtOAc 10:1 + 1% NEt_3) konnte **33** als gelbes Öl erhalten werden (4.89 g, 12.99 mmol, 86%).

DC [Isohexan/EtOAc (10:1)]: $R_f = 0.14$; **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.53\text{--}7.49$ (m, 2H, Ar-H), 7.40–7.21 (m, 6H, Ar-H), 7.10 (m, 1H, Ar-H), 6.87 (m, 4H, Ar-H), 3.78 (s, 6H, OCH_3), 3.40–3.32 (d, 3J (H3, H2) = 7.7 Hz, 1H, H3), 3.20–3.12 (ddd, 2J (H3) = 10.0 Hz, 3J (H2, H1) = 5.2 Hz), 3J (H2, H3) = 7.7 Hz, 2H, H3, H2), 2.82–2.78 (d, 3J (H1, H2) = 5.2 Hz, 1H, H1), 2.67–2.63 (d, 3J (H1, H2) = 5.2 Hz, 1H, H1); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 130.0$ (Ar-C), 129.9 (Ar-C), 128.1 (Ar-C), 127.8 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 113.6 (Ar-C), 113.1 (Ar-C), 85.4 (DMTr- $\text{C}_{\text{quart.}}$), 64.6 (C3), 55.1 (OCH_3), 51.0 (C2), 44.9 (C1); **MS** (EI^+): m/z (%): 43.1 (6, $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}$), 58.3 (3, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), 77.0 (2), 105.0 (3), 135.0 (7, $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_2$), 299.1 (4, $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{O}_4$), 303.1 (100.0, $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{O}_2$), 376.2 (4, $[\text{M}]^+$); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 283.17 (3, $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Na}$), 303.14 (32, $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{O}_2$), 399.16 (100, $[\text{M}+\text{Na}]^+$; ber. für $[\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}]^+$ 399.1566, gef. 399.1566 $[\text{M}+\text{Na}]^+$); 415.13 (96, $[\text{M}+\text{K}]^+$; ber. für $[\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{K}]^+$ 415.1305, gef. 415.1305 $[\text{M}+\text{K}]^+$), 478.30 (12), 775.32 (26, $[\text{M}+\text{Na}]^+$; ber. für $[\text{C}_{48}\text{H}_{48}\text{O}_8\text{Na}]^+$ 775.3241, gef. 775.3240 $[\text{M}+\text{Na}]^+$); 791.30 (6, $[\text{M}+\text{K}]^+$; ber. für $[\text{C}_{48}\text{H}_{48}\text{O}_8\text{K}]^+$ 791.2981, gef. 791.2982 $[\text{M}+\text{K}]^+$);

IR (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 724 (*vs*), 791 (*vw*), 828 (*m*), 904 (*s*), 1034 (*m*), 1068 (*w*), 1154 (*vw*), 1175 (*w*), 1248 (*m*), 1300 (*br w*), 1419 (*w*), 1464 (*w*), 1508 (*m*), 1607 (*m*), 2252 (*vw*) cm^{-1} .

5.3.1.2 (S)-1-(Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-3-(1H-imidazol-1-yl)propan-2-ol (**35**)

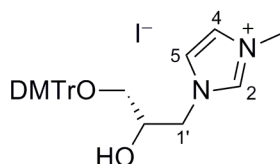


Imidazol **34** (250 mg, 3.67 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem DMF (6 mL) gelöst. Zu der farblosen Lösung wurde NaH (60 %, 32 mg, 0.81 mmol, 0.22 eq) gegeben und 2 h bei Raumtemperatur unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zwischenzeitlich wurde das Epoxid **33** (1.45 g, 3.86 mmol, 1.05 eq) in DMF (8 mL) gelöst, die resultierende gelbe Lösung wurde dann tropfenweise zu der Imidazol-Lösung gegeben. Das gelb gefärbte Reaktionsgemisch wurde 18 h unter Rückfluss gerührt (DC Kontrolle Isohexan/EtOAc 1:2). Nach Abkühlen wurde die entstandene orange Suspension *in vacuo* eingeeengt, in EtOAc (25 mL) aufgenommen, mit H₂O und ges. NaCl-Lösung (je 50 mL) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Es blieb ein orangre schaumiger Rückstand, der säulenchromatographisch (SiO₂, Isohexan/EtOAc 1:2 + 1% NEt₃ → Isohexan/EtOAc 1:4 + 1% NEt₃ → EtOAc/CH₃OH 10:1 + 1% NEt₃) gereinigt wurde. **35** konnte als farbloser Schaum isoliert werden (1.09 g, 2.46 mmol, 67%).

DC [EtOAc/CH₃OH (10:1)]: R_f = 0.83; **¹H-NMR** (200 MHz, CD₃CN): δ = 7.50-7.45 (m, 1H, H2'), 7.37-7.21 (m, 4H, Ar-H), 6.95-6.80 (m, 3H, Ar-H), 4.15-3.87 (m, 4H, H1, H3), 3.06-2.99 und 2.97-2.91 (m, 1H, H2); **¹³C-NMR** (75 MHz, CD₃CN): δ = 158.7 (Ar-C), 145.1 (Ar-C), 137.8 (C2'), 136.0 (Ar-C), 130.0 (Ar-C), 128.0 (Ar-C), 127.8 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 119.9 (Ar-C), 117.3 (Ar-C), 113.0 (Ar-C), 86.0 (DMTr-C_{quart.}), 69.7 (C1), 64.9 (C2), 54.9 (OCH₃), 49.7 (C3); **MS** (EI⁺): m/z (%): 68.0 (2, C₃H₄N₂), 105.0 (2), 125.1 (2, C₆H₉N₂O), 135.0 (3), 152.1 (2), 195.1 (4, C₁₄H₁₁O), 288.1 (6, C₂₀H₁₆O₂), 303.1 (100, C₂₁H₁₉O₂), 444.2 (2, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 303.18 (11, C₂₁H₁₉O₂), 445.21 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₂₇H₂₉O₄N₂]⁺ 445.2122, gef. 445.2118 [M+H]⁺), 889.42 (6, [2M+H]⁺; ber. für [C₅₄H₅₇N₄O₈]⁺ 889.4171, gef. 889.4167 [2M+H]⁺); (ESI⁻): m/z (%): 479.17 (25, [M+Cl]⁻; ber. für [C₂₇H₂₈ClN₂O₄]⁻

479.1743, gef. 479.2022 $[M+Cl]^-$, 486.22 (36), 489.20 (74, $[M+HCOO]^-$; ber. für $[C_{28}H_{29}N_2O_6]^-$ 489.2031, gef. 489.2018 $[M+HCOO]^-$, 503.22 (16), 681.33 (9), 887.40 (100, $[2M-H]^-$; ber. für $[C_{54}H_{55}N_4O_8]^-$, 887.4025, gef. 887.3984 $[2M-H]^-$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 661 (w), 701 (w), 726 (w), 826 (m), 918 (vw), 1031 (s), 1072 (m), 1107 (vw), 1174 (s), 1246 (s), 1300 (br w), 1444 (w), 1507 (vs), 1607 (m), 1732 (br w), 2836 (vw), 2932 (w), 3116 (vw) cm^{-1} ; **Schmelzpunkt**: 64–66 °C.

5.3.1.3 (S)-1-(3-(Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-2-hydroxypropyl)-3-methyl-1H-imidazolium iodid (36)

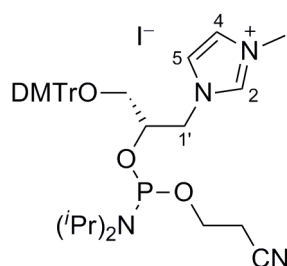


Zu einer schwach gelb gefärbten Lösung von **35** (0.34 g, 0.76 mmol, 1.00 eq) in trockenem CH_3CN (7 mL) wurde CH_3I (0.50 mL, 7.60 mmol, 10.00 eq) langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde fest verschlossen bei Raumtemperatur für 17 h gerührt (DC-Kontrolle EtOAc/ CH_3OH 10:1), anschließend wurden überschüssiges CH_3I sowie Lösemittel im N_2 -Strom über Nacht entfernt. Nach Trocknung im Hochvakuum konnte **36** (0.46 g, 0.71 mmol, 93%) als gelber Schaum erhalten werden.

DC [EtOAc/ CH_3OH (10:1)]: R_f = 0.07; **1H -NMR** (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 9.33 (s, 1H, H2), 7.43-7.39 (m, 2H, Ar-H), 7.33-7.22 (m, 7H, Ar-H), 7.10 (m, 2H, H4, H5), 6.88-6.83 (m, 4H, Ar-H), 4.59 (d, 3J (H1', H2') = 6.6 Hz, 1H, H1'), 4.33 (d, 2J (H1', H1') = 11.3 Hz, 1H, H1'), 4.31 (m, 2H, H3'), 3.91 (s, 3H, CH_3), 3.78 (s, 6H, OCH_3), 4.64 (m, 1H, H1'), 3.36 und 2.92 (dd, $3J$ (H2', H1') = 6.6 Hz, 1H, H2'); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 158.7 (Ar-C), 144.3 (Ar-C), 137.3 (C2), 135.0 (Ar-C), 129.0 (Ar-C), 128.0 (Ar-C), 122.4 und 123.2 (C4 und C5), 113.6 (Ar-C), 86.0 (DMTr- C_{quart}), 67.3 (C3'), 62.9 (C2'), 55.5 (OCH_3), 53.2 (C1'), 36.6 (CH_3); **MS** (ESI^+): m/z (%): 83.0 (48, $C_4H_7N_2$), 105.1 (12), 135.1 (34), 142.0 (12, $C_6H_{10}N_2O_2$), 227.2 (10), 243.2 (38), 288.2 (24), 303.3 (100, $C_{21}H_{19}O_2$), 414.4 (20), 444.4 (100, $C_{27}H_{28}N_2O_4$), 459.2 (0.2, $[M]$); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 252.13 (2, $C_{16}H_{16}ON$), 459.23 (100, $[M]^+$; ber. für $[C_{28}H_{31}N_2O_4]^+$ 459.2278, gef. 459.2262 $[M]^+$); (ESI^-): m/z (%): 380.71 (80), 549.22 (100, $[M+2CHOO]^-$; ber. für $[C_{30}H_{33}N_2O_8]^-$, 549.2242, gef. 549.2244 $[M+2CHOO]^-$).

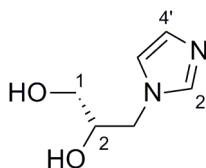
631.13 (70, $[M+I+HCOO]^-$; ber. für $[C_{29}H_{32}IN_2O_6]^-$ 631.1311, gef. 631.1315 $[M+I+HCOO]^-$), 713.09 (20, $[M+2I]^-$; ber. für $[C_{28}H_{31}I_2N_2O_4]^-$ 713.0379, gef. 713.0387 $[M+2I]^-$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 662 (vw), 703 (w), 755 (w), 828 (m), 1028 (m), 1071 (br w), 1173 (s), 1246 (s), 1300 (br w), 1387 (vw), 1444 (w), 1507 (s), 1575 (vw), 1606 (w), 1660 (br m), 1732 (vw), 2836 (vw), 2931 (vw), 3060 (vw), 3149 (vw), 3320 (br w) cm^{-1} . **Schmelzpunkt**: 85–86 °C.

5.3.1.4 Phosphoramidit 31



36 (130 mg, 0.21 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem DCM (1.5 mL) gelöst. Die orange Lösung wurde sorgfältig entgast. Anschliessend wurden Hünig-Base (0.17 mL, 0.97 mmol, 4.50 eq) sowie CEDCl (0.10 mL, 0.43 mmol, 2.00 eq) tropfenweise zugegeben, wobei eine sofortige Entfärbung beobachtet wurde. Das Reaktionsgemisch rührte 45 min bei Raumtemperatur unter Argon-Atmosphäre (DC-Kontrolle EtOAc/CH₃OH 10:1) und wurde durch Zugabe von CH₃OH (1 mL) gequencht. Das Lösemittel wurde *in vacuo* entfernt. Der ölige Rückstand wurde in entgastem EtOAc (1.5 mL) gelöst, dann wurde entgastes Isohexan (5 mL) zugegeben. Der entstandene Niederschlag wurde verworfen, die verbleibende Lösung *in vacuo* eingengt. Die Prozedur wurde zweimal wiederholt. Phosphoramidit **31** konnte nach Trocknung am Hochvakuum als schwach gelber Schaum isoliert werden (87 mg, 0.11 mmol, 54%).

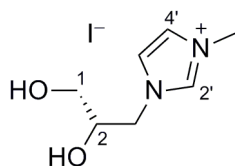
DC [EtOAc/CH₃OH (10:1)]: R_f = 0.87; **¹H-NMR** (200 MHz, CDCl₃): δ = 9.14 (s, 1H, H2), 7.56-7.44 (m, 5H, Ar-H), 7.35-7.30 (m, 7H, Ar-H), 6.90-6.86 (m, 4H, Ar-H), 4.58-4.41 (m, 2H, H1'), 4.31 (m, 2H, H3'), 3.90 (s, 3H, CH₃), 3.76 (s, 6H, OCH₃), 3.65-3.57 (m, 2H, OCH₂CH₂CN), 3.18-3.04 (m, 4H, H2', ⁱPrCH₂), 2.75-2.49 (m, 2H, OCH₂CH₂CN), 1.14- 1.05 (m, 6H, ⁱPrCH₃); **³¹P-NMR** (200MHz, CDCl₃): δ = 150.4, 149.7; **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 295.29 (6), 557.31 (3), 659.33 (100, $[M]^+$; ber. für $[C_{37}H_{48}N_4O_5P]^+$ 659.3357, gef. 659.3342 $[M]^+$).

5.3.1.5 (S)-3-(1*H*-Imidazol-1-yl)propan-1,2-diol (**37**)

Imidazol **34** (4.08 g, 59.93 mmol, 1.00 eq) wurde in DMF (75 mL) gelöst. Fein gemörstertes K_2CO_3 (3.57 g, 26.05 mmol, 0.43 eq) wurde zugegeben und die entstandene weiße Suspension 60 min bei 70 °C gerührt. Nach Zugabe von *R*-(+)-Glycidol **32** (4.44 g, 59.92 mmol, 1.00 eq) wurde das Ölbad entfernt und das Reaktionsgemisch 48 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc/CH₃OH 10:1). Die erhaltene orange Suspension wurde filtriert und *in vacuo* eingengt. Nachdem restliches DMF mittels azeotroper Destillation mit CH₃CN (3·25 mL) entfernt wurde, erfolgte säulenchromatographische Aufreinigung (SiO₂, EtOAc/CH₃OH 10:1) des verbleibenden öligen Rückstands. **37** konnte als gelber Feststoff isoliert werden (5.27 g, 37.16 mmol, 62%).

DC [EtOAc/CH₃OH (10:1)]: $R_f = 0.11$; **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 7.51$ (s, 1H, H2'), 7.08 (s, 1H, H5'), 6.82 (s, 1H, H4'), 5.01 (d, 3J (C2-OH, H2) = 5.2 Hz, 1H, C2-OH), 4.75 (t, 3J (C1-OH, H1) = 5.5 Hz, 1H, C1-OH), 4.03 und 3.84 (dd, 2J (H3, H3) = 14.0 Hz; 3J (H3, H2) = 3.6 Hz, 2H, H3), 3.63 (d, 3J (H2, H1) = 3.6 Hz, 1H, H2), 3.28 (dd, 3J (H3, C2-OH) = 5.5 Hz, 2J (H3, H3) = 10.6 Hz), 2H, H3); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 138.2$ (C2'), 128.2 (C4'), 120.6 (C5'), 71.2 (C2), 63.5 (C1), 49.7 (C3); **MS** (EI⁺): m/z (%): 40.9 (26), 54.0 (30), 68.0 (19, C₃H₄N₂), 82.1 (100, C₄H₆N₂), 107.1 (C₆H₇N₂), 142.1 (31 [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 143.08 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₆H₁₁O₂N₂]⁺ 143.0814, gef. 143.0815 [M+H]⁺), 214.12 (15), 285.16 (5, [2M+H]⁺; ber. für [C₁₂H₂₁N₄O₄]⁺ 285.1557, gef. 285.1558 [2M+H]⁺); (ESI⁻): m/z (%): 112.99 (5), 177.04 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₆H₁₀ClN₂O₂]⁻ 177.0436, gef. 177.0437 [M+Cl]⁻), 187.07 (63, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₇H₁₁N₂O₄]⁻ 187.0724, gef. 187.0725 [M+HCOO]⁻), 201.09 (30), 286.94 (12); (EI⁺): m/z (%): 142.07 (30, [M]⁺; ber. für [C₆H₁₀N₂O₂]⁺ 142.0737, gef. 142.0740 [M]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 627$ (m), 774 (m), 840 (w), 862 (w), 923 (s), 1053 (m), 1087 (s), 1106 (m), 1239 (m), 1288 (w), 1354 (w), 1358 (w), 1439 (w), 1511 (m), 1614 (vw), 1673 (vw), 2696 (br m), 2762 (br w), 2827 (w), 2909 (vw), 3041 (br m), 3340 (s) cm⁻¹; **Schmelzpunkt**: 72–74 °C.

5.3.1.6 (S)-1-(2,3-Dihydroxypropyl)-3-methyl-1*H*-imidazoliumiodid (**30**)



37 (0.23 g, 1.60 mmol, 1.00 eq.) wurde in CH₃CN (5 mL) unter Verwendung eines Ultraschallbades gelöst. Zu der schwach gelben Lösung wurde CH₃I (2.00 mL, 0.03 mol, 20.00 eq.) bei Raumtemperatur langsam zugetropft, wobei eine sofortige Trübung beobachtet wurde. Das Reaktionsgemisch wurde verschlossen bei Raumtemperatur für 20 h gerührt. (DC-Kontrolle EtOAc/CH₃OH 10:1). Nach Entfernen von überschüssigem CH₃I und Lösemittel im N₂-Strom über Nacht blieb **30** nach Trocknung am Hochvakuum als gelbes Öl. (0.44 g, 1.55 mmol, 96%)

¹H-NMR (400MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.01 (s, 1H, H2'), 7.68-7.64 (dd, 3J (H4, H5) = 5.5 Hz, 2H, H4', H5'), 5.23 (d, 3J (C2-OH, H2) = 5.2 Hz, 1H, C2-OH), 4.85 (t, 3J (C1-OH, H1) = 5.6 Hz, 1H, C1-OH), 4.27 und 4.03 (dd, 2J (H3, H3) = 13.8 Hz, 3J (H3, H2) = 7.9 Hz, 1H, H3), 3.84 (s, 3H, CH₃), 3.72 (m, 1H, H2), 3.39 und 3.22 (dd, 3J (H1, C1-OH) = 5.6 Hz, 2J (H1, H1) = 11.3 Hz, 2H, H1); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 137.4 (C2'), 123.6 (C4' und C5'), 70.0 (C2), 63.1 (C1), 52.6 (C3), 36.2 (CH₃); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 41.2 (100), 82.1 (40, C₄H₆N₂), 126.9 (17), 141.9 (30), 157.1 (4, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 157.10 (100, [M]⁺; ber. für [C₇H₁₃N₂O₂]⁺ 157.0972, gef. 157.0972 [M]⁺), 228.13 (5), 349.16 (12, [2M+Cl]⁺; ber. für [C₁₄H₂₆ClN₄O₄]⁺ 349.1637, gef. 349.1637 [2M+Cl]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 126.91 (100, Γ), 227.04 (65, [M+2Cl]⁻; ber. für [C₇H₁₃Cl₂N₂O₂]⁻ 227.0360 gef. 227.0361 [M+2Cl]⁻); (EI⁺): *m/z* (%): 157.10 (4, [M]⁺; ber. für [C₇H₁₃N₂O₂]⁺ 157.0972, gef. 157.0971 [M]⁺); **IR** (Rein-substanz): $\tilde{\nu}$ = 662 (*w*), 744 (*br m*), 830 (*br w*), 923 (*br vw*), 1041 (*br s*), 1101 (*m*), 1167 (*s*), 1342 (*vw*), 1423 (*vw*), 1448 (*vw*), 1563 (*m*), 2924 (*vw*), 3089 (*br w*), 3147 (*w*), 3337 (*br s*) cm⁻¹.

Zur Bestimmung des Extinktionskoeffizienten wurde das UV/Vis-Spektrum von **30** in H₂O (0.1 mM) aufgenommen (Abb. 106).

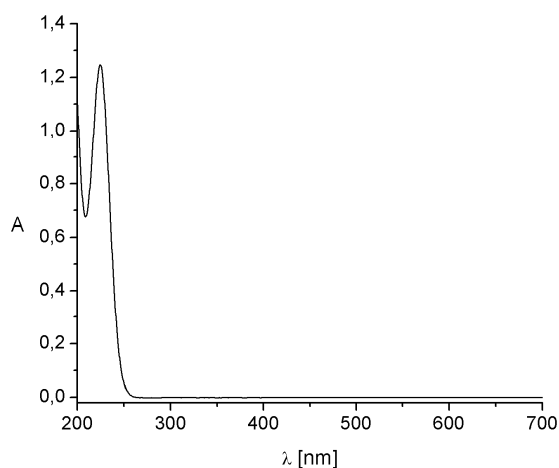
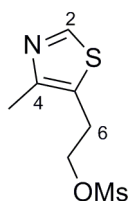


Abb. 106: UV/Vis-Spektrum der Verbindung **30** in H₂O (0.1 mM).

5.3.2 Synthese von Thiaminazid **46**

5.3.2.1 Synthese des Thiazol-Derivats **48**

5.3.2.1.1 2-(4-Methylthiazol-5-yl)ethylmethansulfonat (**57**)¹⁸⁵

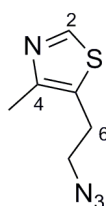


56 (5.00 mL, 41.80 mmol, 1.00 eq) wurde in CH₂Cl₂ (25 mL) gelöst und mit NEt₃ (6.58 mL, 47.50 mmol, 1.10 eq) versetzt. Zu der gelben Lösung wurde tropfenweise unter Eisbadkühlung MsCl (3.68 mL, 47.50 mmol, 1.10 eq) gegeben, wobei sich rasch ein gelber kristalliner Niederschlag bildete. Es wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Zu der Suspension wurde ges. NaHCO₃-Lösung (10 mL) gegeben und anschließend wurde mit CH₂Cl₂ (40 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser (45 mL) und ges. NaCl-Lösung (45 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösemittel *in*

vacuo entfernt. Das verbleibende orange Öl wurde säulenchromatographisch (SiO₂, EtOAc) gereinigt. Verbindung **57** (4.54 g, 20.5 mmol, 49 %) konnte als gelbes Öl erhalten werden.

DC [EtOAc]: $R_f = 0.43$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.52$ (s, 1H, H2), 4.26 (t, ³ J (H7, H6) = 8.0 Hz, 2H, H7), 3.13 (t, ³ J (H6, H7) = 8.0 Hz, 2H, H6), 2.86 (s, 3H, OSO₂-CH₃), 2.32 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 150.53$ (C4), 150.25 (C2), 125.25 (C5), 68.94 (C7), 37.41 (OSO₂-CH₃), 26.36 (C6), 14.92 (CH₃); **MS** (EI⁺): m/z (%) = 45.0 (26, CHS), 58.0 (10, C₂H₂S), 79.0 (23, CH₃O₂S), 85.0 (33, C₃H₃NS), 97.0 (15, C₅H₅S), 98.0 (24, C₅H₆S), 112.0 (100, C₂H₈O₃S), 112.0 (56, C₅H₆O₂N), 125.1 (47, C₇H₉O₂), 126.0 (35.0, C₃H₁₀O₃S), 127.0 (12, C₅H₅O₃N), 221.0 (6, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 74.26 (7), 126.04 (9, C₆H₈NS), 222.03 (77, [M+H]⁺; ber. für [C₇H₁₂NO₃S₂]⁺ 222.0259, gef. 222.0256 [M+H]⁺), 347.06 (100); (EI⁺): m/z (%): 221.02 (4, [M]⁺; ber. für [C₇H₁₁NO₃S₂]⁺ 221.0180, gef. 221.0170 [M]⁺); (ESI⁻): m/z (%): 94.98 (100), 190.97 (10), 266.02 (18, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₈H₁₂NO₅S₂]⁻ 266.0162, gef. 266.0160 [M+HCOO]⁻), 315.99 (70), 441.03 (20, [2M-H]⁻; ber. für [C₁₄H₂₁N₂O₆S₄]⁻ 441.0288, gef. 441.0286 [2M-H]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 667$ (vw), 729 (w), 766 (m), 793 (m), 837 (w), 881 (w), 919 (m), 961 (br m), 1038 (s), 1166 (vs), 1339 (s), 1382 (vw), 1414 (w), 1450 (vw), 1545 (vw), 1589 (vw), 2930 (vw), 3007 (vw), 3435 (br vw) cm⁻¹.

5.3.2.1.2 5-(2-Azidoethyl)-4-methylthiazol (**48**)



Variante 1: **57** (8.74 g, 39.50 mmol, 1.00 eq) wurde in DMF (65 mL) gelöst und mit NaN₃ (3.08 g, 47.40 mmol, 1.20 eq) versetzt. Die erhaltene Suspension wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand in CH₂Cl₂ (20 mL) aufgenommen. Es wurde mit H₂O (40 mL) gewaschen, mit CH₂Cl₂ (20 mL) rückextrahiert, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. Das bleibende orange Öl wurde säulenchromatographisch (SiO₂, EtOAc) gereinigt. **48** wurde als gelbes Öl isoliert (6.10 g, 36.20 mmol, 92%).

Variante 2: **56** (140 mg, 1.00 mmol, 1.00 eq) und PPh_3 (0.53 g, 2.00 mmol, 2.00 eq) wurden in trockenem Toluol (5 mL) gelöst. In der farblosen Lösung wurde $\text{Zn}(\text{N}_3)_2 \cdot 2\text{Py}$ (0.46 g, 1.50 mmol, 1.50 eq) suspendiert. DIAD (0.39 mL, 1.85 mmol, 1.85 eq) wurde langsam zugetropft, wobei sich suspendiertes $\text{Zn}(\text{N}_3)_2 \cdot 2\text{Py}$ **110** auflöste und gegen Ende der Zugabe eine homogene gelbe Suspension bestehen blieb. Es wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc), über Cellite filtriert, mit Toluol gewaschen und das Filtrat *in vacuo* eingengt. **48** (89 mg, 0.53 mmol, 53%) blieb als oranges Öl, das nicht weiter aufgereinigt wurde.

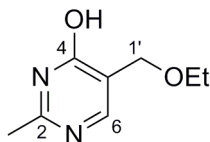
DC [EtOAc]: $R_f = 0.73$; **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.58$ (s, 1H, H2), 3.47 (t, 3J (H6, H7) = 8.0 Hz, 2H, H7), 3.00 (t, 3J (H7, H6) = 8.0 Hz, 2H, H6), 2.39 (s, 3H, CH_3); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 150.2$ (C2), 150.2 (C4), 127.2 (C5), 52.2 (C7), 26.4 (C6), 15.1 (CH_3); **MS** (EI^+), m/z (%): 45.0 (15, CHS), 59.0 (5, CHNS), 68.1 (2, $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}$), 69.0 (3, C_3HS), 85.0 (24, $\text{C}_4\text{H}_5\text{S}$), 111.0 (24, $\text{C}_5\text{H}_5\text{NS}$), 112.0 (100, $\text{C}_5\text{H}_6\text{NS}$), 113.0 (11, $\text{C}_5\text{H}_7\text{NS}$), 168.0 (4, $[\text{M}]^+$); **HRMS** (EI^+): m/z (%): 168.05 (4, $[\text{M}]^+$; ber. für $[\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_4\text{S}]^+$ 168.0465, gef. 168.0470 $[\text{M}]^+$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 647$ (m), 792 (s), 842 (s), 902 (w), 942 (vw), 1079 (w), 1204 (vw), 1239 (s), 1259 (s), 1350 (w), 1378 (w), 1414 (s), 1450 (vw), 1543 (w), 1737 (vw), 2087 (vs), 2868 (vw), 2926 (w) cm^{-1} .

Synthese von $\text{Zn}(\text{N}_3)_2 \cdot 2\text{Py}$ (**110**)

Zu einer Lösung von $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (7.14 g, 24.00 mmol, 1.00 eq) in H_2O (6 mL) wurde unter Rühren eine NaN_3 -Lösung (2M in H_2O , 12 mL, 48.00 mmol, 2.00 eq) zugetropft. Die entstandene weiße Suspension wurde auf 50 °C erwärmt und tropfenweise mit Pyridin (4.00, 49.40 mmol, 2.06 eq) versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch mit einem Eisbad gekühlt, wobei $\text{Zn}(\text{N}_3)_2 \cdot 2\text{Py}$ **110** als weißer kristalliner Feststoff ausfiel, der mit Eiswasser gewaschen und am Hochvakuum getrocknet wurde (5.61 g, 18.24 mmol, 76%). Das Produkt wurde bei -20 °C unter Argon-Atmosphäre gelagert.

5.3.2.2 Synthese des Pyrimidin-Derivats **47**

5.3.2.2.1 5-(Ethoxymethyl)-2-methylpyrimidin-4-ol (**53**)¹⁸⁶

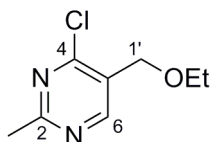


NaOEt (43.70 g, 0.64 mol, 2.00 eq) wurde in Petrolatum (250 mL) suspendiert. Bei 35 °C wurde eine Mischung von Ethylacrylat **51** (34.60 mL, 0.32 mol, 1.00 eq) und Ethylformiat **50** (52.80 mL, 0.65 mol, 2.04 eq) innerhalb von 60 min unter Rühren zugetropft. Zu der gelben Suspension wurde Acetamidin·HCl **52** (31.30 g, 0.33 mmol, 1.04 eq) in Eiswasser (80 mL) zugetropft und eine Stunde bei 0 °C gerührt. Das Petrolatum wurde abgenutscht, **52** (37.80 g, 0.40 mmol, 1.26 eq) im gelben Filtrat gelöst und 24 h im Kühlschrank gelagert (DC-Kontrolle, EtOAc/CH₃OH 10:1). Die gelbe Lösung wurde mit Ether (260 mL) gewaschen, mit Eisessig auf pH = 6-7 gebracht (Kontrolle mit pH-Papier) und mit CHCl₃ (2 L) extrahiert. Das Lösemittel wurde *in vacuo* entfernt und der erhaltene Feststoff mit wenig Aceton gewaschen. Nach Trocknung am Hochvakuum konnte **53** als farbloser Feststoff (3.00 g, 17.8 mmol, 6 %) isoliert werden.

DC [EtOAc/CH₃OH (10:1)]: $R_f = 0.91$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.61$ (s, 1H, H₆), 4.52 (s, 2H, H_{1'}), 3.61 (q, $^3J(\text{OCH}_2\text{CH}_3, \text{OCH}_2\text{CH}_3) = 7.0$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 2.68 (s, 3H, CH₃), 1.25 (t, $^3J(\text{OCH}_2\text{CH}_3, \text{OCH}_2\text{CH}_3) = 7.0$ Hz, 3H, OCH₂CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 168.1$ (C₂), 159.5 (C₆), 157.4 (C₄), 127.5 (C₅), 67.1 (OCH₂CH₃), 66.9 (C_{1'}), 25.7 (CH₃), 15.3 (OCH₂CH₃); **MS** (EI⁺): m/z (%): 41.6 (21), 43.8 (7), 80.1 (10, C₅H₆N), 123.1 (38, C₆H₇ON₂), 124.1 (100, C₆H₈ON₂), 137.0 (12), 139.1 (58, C₆H₇O₂N₂), 168.1 (2, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 169.09 (100, [M+H]⁺, ber. für [C₈H₁₃N₂O₂]⁺ 169.0972, gef. 169.0971 [M+H]⁺), 232.11 (31), 270.22 (21), 359.17 (54, [2M+Na]⁺; ber. für [C₁₆H₂₄N₄NaO₄]⁺ 359.1690, gef. 359.1687 [2M+Na]⁺), 395.19 (18), 425.24 (34); (ESI⁻): m/z (%): 167.08 (88, [M-H]⁻; ber. für [C₈H₁₁N₂O₂]⁻ 167.0826, gef. 167.0824 [M-H]⁻), 203.06 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₈H₁₂ClN₂O₂]⁻ 203.0593, gef. 203.0592 [M+Cl]⁻), 230.08 (45), 249.00 (27), 335.17 (65, [2M-H]⁻; ber. für [C₁₆H₂₃N₄O₄]⁻ 335.1725, gef. 335.1730 [2M-H]⁻), 371.15 (22, [2M+Cl]⁻; ber. für [C₁₆H₂₄ClN₄O₄]⁻ 371.1492, gef. 371.1502 [2M+Cl]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 1084$

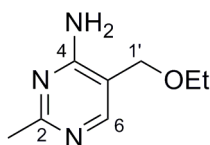
(s), 1119 (s), 1338 (m), 1380 (m), 1431 (s), 1485 (w), 1530 (s), 1620 (m), 1928 (w), 2868 (w), 2981 (w) cm^{-1} ; **Schmelzpunkt:** 184–185 °C.

5.3.2.2.2 4-Chlor-5-(ethoxymethyl)-2-methylpyrimidin (**54**)¹⁸⁷



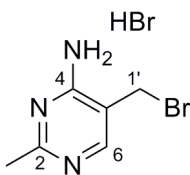
53 (200 mg, 1.19 mmol, 1.00 eq) wurde unter Argon-Atmosphäre bei -78 °C vorsichtig mit Phosphorylchlorid (2.00 mL, 18.00 mmol, 15.00 eq) versetzt. Die erhaltene gelbe Lösung wurde 3 h bei dieser Temperatur gerührt (DC Kontrolle EtOAc/CH₃OH 10:1). Überschüssiges Phosphorylchlorid wurde *in vacuo* entfernt und der verbleibende Rückstand mit H₂O (10 mL) versetzt. Es wurde mit CHCl₃ (40 mL) extrahiert, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. **54** konnte als gelbes Öl (195 mg, 1.04 mmol, 87 %) erhalten werden.

DC [EtOAc/CH₃OH (10:1)] $R_f = 0.91$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.61$ (s, 1H, H6), 4.52 (s, 2H, H1'), 3.61 (q, $^3J(\text{OCH}_2\text{CH}_3, \text{OCH}_2\text{CH}_3) = 7.0$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 2.68 (s, 3H, CH₃), 1.25 (t, $^3J(\text{OCH}_2\text{CH}_3, \text{OCH}_2\text{CH}_3) = 7.0$ Hz, 3H, OCH₂CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 168.1$ (C2), 159.5 (C6), 157.4 (C4), 127.5 (C5), 67.1 (OCH₂CH₃), 66.9 (C1'), 25.7 (CH₃), 15.3 (OCH₂CH₃); **MS** (EI⁺): m/z (%): 52.0 (8, C₃H₂N), 59.0 (4, C₃H₇O), 73.0 (12, C₂ClN), 83.0 (10, C₄H₅NO), 106.1 (5, C₆H₆N₂), 107.1 (10, C₆H₇N₂), 121.0 (12, C₆H₅N₂O), 141.0 (100, C₆H₆ClN₂), 142.0 (16, C₆H₇ClN), 157.0 (55, C₆H₆ClN₂O), 186.1 (13 [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 187.06 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₈H₁₂ClN₂O]⁺ 187.0638, gef. 187.0628 [M+H]⁺), 373.12 (25, [2M+H]⁺; ber. für [C₁₆H₂₃Cl₂N₄O₂]⁺ 373.1193, gef. 373.1183 [2M+H]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 1084$ (s), 1119 (s), 1338 (m), 1380 (m), 1431 (s), 1485 (w), 1530 (s), 1580 (s), 2871 (w), 2978 (w) cm^{-1} .

5.3.2.2.3 5-(Ethoxymethyl)-2-methylpyrimidin-4-amin (**55**)¹⁸⁷

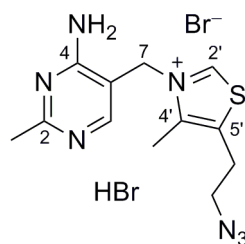
54 (790 mg, 4.23 mmol, 1.00 eq) wurde in einer Hochdruckbombe vorgelegt und mit einer NH_3 -Lösung (8 mL, 7 M in CH_3OH) versetzt. Es wurde 24 h bei 140°C und 5 bar gerührt. Die Lösung wurde *in vacuo* eingeeengt, der Rückstand in Wasser (15 mL) aufgenommen und mit festem NaHCO_3 auf pH 8 gebracht (Kontrolle mit pH-Papier). Die wässrige Lösung wurde mit CHCl_3 extrahiert (75 mL), über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingeeengt. Der Rückstand wurde in heißem Ether (20 mL) aufgenommen und *in vacuo* auf etwa 5 mL eingeeengt, wobei sich sofort farblose Kristalle abschieden. Nach Filtration und Trocknen am Hochvakuum konnte **55** als farbloser kristalliner Feststoff isoliert werden. (620 mg, 3.71 mmol, 88%).

DC [$\text{EtOAc}/\text{CH}_3\text{OH}$ (10:1)]: $R_f = 0.32$; **$^1\text{H-NMR}$** (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.97$ (s, 1H, H6), 5.42 (s, 2H, NH_2), 4.40 (s, 2H, H1'), 3.46 (q, 3J (OCH_2CH_3 , OCH_2CH_3) = 7 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 2.47 (s, 3H, CH_3), 1.20 (t, 3J (OCH_2CH_3 , OCH_2CH_3) = 7 Hz, 3H, OCH_2CH_3); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CD_3OD): $\delta = 167.9$ (C2), 162.6 (C4), 154.8 (C6), 110.7 (C5), 68.4 (C1'), 65.6 (OCH_2CH_3), 25.9 (CH_3), 15.3 (OCH_2CH_3); **MS** (EI^+): m/z (%): 54.0 (11, $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_2$, 81.0 (25, $\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_3$), 110.1 (8, $\text{C}_5\text{H}_8\text{N}_3$), 122.1 (100, $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_3$), 123.1 (83, $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3$), 138.1 (37, $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_3\text{O}$), 167.1 (39, $[\text{M}]^+$); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 168.11 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_8\text{H}_{14}\text{ON}_3]^+$ 168.1131, gef. 168.1130 $[\text{M}+\text{H}]^+$), 284.12 (6), 335.22 (4, $[\text{2M}+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_2]^+$ 335.2190, gef. 335.2190 $[\text{2M}+\text{H}]^+$); (ESI^-): m/z (%): 166.09 (10, $[\text{M}-\text{H}]^-$; ber. für $[\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}]^-$ 166.0986, gef. 166.0983 $[\text{M}-\text{H}]^-$), 250.94 (100), 323.14 (45); (EI^+): m/z (%): 167.11 (39, $[\text{M}]^+$, ber. für $[\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}]^+$ 167.1059, gef. 167.1050 $[\text{M}]^+$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 1071$ (s), 1374 (m), 1396 (m), 1421 (s), 1485 (m), 1560 (s), 1594 (m), 1659 (s), 2857 (m), 2898 (m), 2981 (m), 3336 (m), 3376 (m) cm^{-1} ; **Schmelzpunkt**: $85\text{--}87^\circ\text{C}$.

5.3.2.2.4 5-(Brommethyl)-2-methylpyrimidin-4-aminhydrobromid (**47**)¹⁸⁷

55 (94 mg, 0.56 mmol) wurde in einem Glasbombenrohr vorgelegt, rasch mit HBr (6.0 mL, 33 Vol.-% in Eisessig) versetzt, luftdicht verschlossen und die Lösung 3 h bei 100 °C gerührt (DC-Kontrolle EtOAc/CH₃OH 10:1). Von der gelben Suspension wurde die überstehende gelbe Lösung vorsichtig abpipetiert. Der verbleibende Rückstand wurde solange mit Ether gewaschen, bis der Etherextrakt farblos war, anschließend wurde der farblose Rückstand in wenig kaltem CH₃OH gelöst und das Produkt durch Zugabe von Ether zur vollständigen Präzipitation gebracht. Es wurde filtriert und am Hochvakuum getrocknet. **47** konnte als farbloser, kristalliner Feststoff erhalten werden (137 mg, 0.488 mmol, 86%).

DC [EtOAc/CH₃OH (10:1)]: $R_f = 0.22$; **¹H-NMR** (300 MHz, CD₃OD): $\delta = 8.08$ (s, 1H, H6), 4.38 (s, 2H, H1'), 2.55 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD): $\delta = 165.4$ (C4), 162.8 (C2), 142.1 (C6), 113.7 (C5), 68.5 (C1'), 21.7 (CH₃); **MS** (EI⁺): m/z (%): 42.0 (43, C₂H₄N), 53.0 (16, C₂HN₂), 78.9 (20, Br), 79.9 (41, HBr), 81.0 (30, C₄H₅N₂), 122.1 (93, C₆H₈N₃), 123.1 (100, C₆H₉N₃), 201.0 (0.1, [M]⁺); **HRMS** (EI⁺): m/z (%): 200.99 (0.1, [M]⁺, ber. für [C₆H₈N₃Br]⁺ 200.9902, gef. 200.9902 [M]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 686$ (s), 1384 (m), 1442 (m), 1506 (m), 1579 (s), 1636 (m), 1669 (s), 3057 (m) cm⁻¹; **Schmelzpunkt**: 203–205°C.

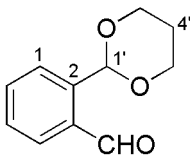
5.3.2.2.5 Thiaminazidbromidhydrobromid (**46**)

47 (73 mg, 0.43 mmol, 1.20 eq) und **48** (102 mg, 0.36 mmol, 1.00 eq) wurden mit *n*BuOH (1 mL) versetzt. Es entstand eine schwach gelbe Suspension, die auf 120 °C erwärmt wurde. Nach etwa 10 min entfärbte sich die Reaktion. Nach 20 min wurde die Suspension auf Raumtemperatur gekühlt und mit EtOH (2 mL) versetzt, wobei ein farbloser Feststoff ausfiel. Es wurde filtriert, mit wenig EtOH gewaschen und getrocknet. **46** konnte als farbloser, kristalliner Feststoff erhalten werden (29 mg, 0.06 mmol, 18%).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.99 (s, 1H, H2'), 8.43 (s, 1H, H6), 5.55 (s, 2H, H7), 3.69 (t, ³*J* (H7', H6') = 8.0 Hz), 2H, H7'), 3.25 (t, ³*J* (H6', H7') = 8.0 Hz), 2H, H6'), 2.57 (s, 3H, C2-CH₃), 2.55 (s, 3H, C4'-CH₃); **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 163.2 (C6), 161.9 (C2'), 155.8 (C2), 146.7 (C4), 143.3 (C4'), 134.2 (C5'), 105.1 (C5), 50.4 (C7), 50.1 (C7'), 25.8 (C6'), 21.4 (C2-CH₃), 11.7 (C4'-CH₃); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 42.1 (11, CH₂N₂), 79.0 (22, C₄H₃N₂), 80.0 (53, C₄H₄N₂), 81.0 (34, C₄H₅N₂), 82.0 (50, C₄H₆N₂), 112.1 (16, C₅H₆NS), 122.1 (65, C₆H₈N₃), 149.1 (24, C₇H₉N₄), 151.1 (13, C₇H₁₁N₄), 243.2 (100, C₁₂H₁₁N₄S), 270.2 (11, C₁₂H₁₀N₆S), 273.1 (20, C₁₂H₁₃N₆S); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 196.14 (11, C₈H₁₆N₆), 290.12 (100, [M]⁺; ber. für [C₁₂H₁₆N₇S]⁺ 290.1182, gef. 290.1147 [M]⁺), 659.15 (16, [2M+Br]⁺; ber. für [C₂₄H₃₂BrN₁₄S₂]⁺ 659.1554, gef. 659.1529 [2M+Br]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%) = 449.96 (100, [M+2Br]⁻; ber. für [C₁₂H₁₆Br₂N₇S]⁻ 449.9560, gef. 449.9585 [2M+Br]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 1348 (*m*), 1379 (*m*), 1519 (*m*), 1573 (*w*), 1598 (*w*), 1651 (*s*), 2109 (*s*), 2828 (*m*), 2931 (*m*), 2985 (*m*), 3054 (*w*) cm⁻¹; **Schmelzpunkt**: 109°C.

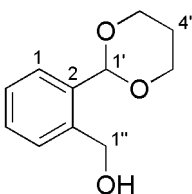
5.3.3 Synthese des *L*-Lysin-Derivats (**91**)

5.3.3.1 2-(1,3-Dioxan-2-yl)benzaldehyd (**95**)¹⁸⁷



94 (5.53g, 0.04 mol, 1.00 eq), 1,3-Propandiol (2.98 mL, 0.04 mol, 1.00 eq) und *p*-Toluolsulfonsäure (78 mg, 0.40 mmol, 0.10 eq) wurden in Toluol (25 mL) suspendiert. Das Reaktionsgemisch rührte 6 h unter Rückfluss unter Verwendung eines Wasserabscheiders (DC-Kontrolle Isohexan/EtOAc 4:1). Nach Abkühlen wurde ges. NaHCO₃-Lösung (1 mL) sowie H₂O (9 mL) zugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Ether (75 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das bleibende schwarz gefärbte Öl im Hochvakuum destilliert (0,1 mbar, 100 °C). **95** wurde als gelbes Öl erhalten (5.42 g, 0.028 mmol, 68%).

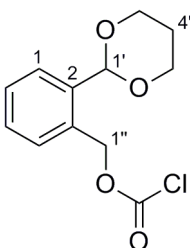
DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: $R_f = 0.38$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 10.53$ (s, 1H, CHO), 6.02 (s, 1H, H1'), 7.94-7.34 (m, 4H, H1, H4, H5, H6), 5.61 (s, 1H, H1'), 4.32-4.00 (m, 4H, H3', H5'), 2.34-2.18 (m, 1H, H4'), 1.52-1.45 (m, 1H, H4'); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 192.3$ (CHO), 139.7 (C5), 133.8 (C2), 133.5 (C3), 129.7 (C1), 129.2 (C6), 127.3 (C4), 100.1 (C1'), 67.6 (2C, C3', C5'), 25.8 (C4'); **MS** (EI⁺): m/z (%): 77.0 (22, C₆H₅), 105.0 (48, C₇H₅O), 133.0 (100, C₉H₈O), 192.1 (5, [M]⁺); **HRMS** (EI⁺): m/z (%): 192.08 (5, [M]⁺; ber. für [C₁₁H₁₂O₃]⁺ 192.0781, gef. 192.0768 [M]⁺); (ESI⁺): m/z (%): 193.07 (12, [M+H]⁺; ber. für [C₁₁H₁₃O₃]⁺ 193.0859, gef. 193.0861 [M+H]⁺), 239.22 (18), 251.13 (17), 325.11 (10), 363.08 (16), 402.19 (100, [2M+NH₄]⁺; ber. für [C₂₂H₂₈NO₆]⁺ 402.1911, gef. 402.1908 [2M+NH₄]⁺), 407.15 (55, [2M+Na]⁺; ber. für [C₂₂H₂₄NaO₆]⁺ 407.1465, gef. 407.1464 [2M+Na]⁺); **IR** (Rein-substanz): $\tilde{\nu} = 634$ (w), 760 (m), 817 (w), 848 (w), 924 (m), 949 (w), 988 (m), 1089 (vs), 1147 (m), 1215 (w), 1237 (w), 1376 (w), 1429 (vw), 1468 (w), 1602 (m), 1692 (vs), 1725 (w), 1767 (vs), 2858 (w), 2964 (w) cm⁻¹.

5.3.3.2 [2-(1,3-Dioxan-2-yl)phenyl]methanol (**96**)

Acetal **95** (11.84 g, 0.06 mol, 1.00 eq) wurde in trockenem CH₃OH (200 mL) gelöst. Zu der gelben Lösung wurde bei 0 °C NaBH₄ (4.66 g, 0.12 mol, 2.00 eq) portionsweise gegeben, wobei eine Entfärbung beobachtet wurde. Die Reaktion wurde 30 min bei 0 °C gerührt (DC-Kontrolle Isohexan/EtOAc 4:1) und anschließend mit H₂O (10 mL) gequencht. Es wurde mit EtOAc (200 mL) extrahiert, mit ges. NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. Das erhaltene gelb gefärbte Öl wurde säulenchromatographisch (SiO₂, Isohexan/EtOAc 4:1) aufgereinigt. **96** (8.42 g, 0.04 mol, 70 %) wurde als farbloses Öl erhalten, das in der Kälte kristallisierte.

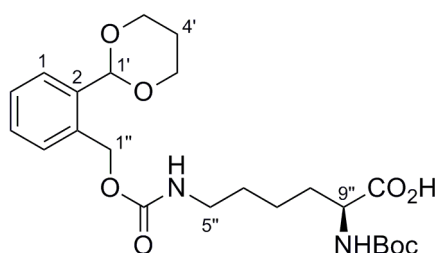
DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: $R_f = 0.17$; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.52$ -7.48 (m, 1H, H1), 7.37 (m, 1H, H4), 7.34 (m, 1H, H5), 7.31 (m, 1H, H6), 5.62 (s, 1H, H1'), 4.70 (d, 3J (H1'', OH) = 6.5 Hz, 2H, H1''), 4.23 (ddd, 2J (H5', (H3')) = 12.2 Hz, 3J (H5' (H3'), H4') = 2.6 Hz, 2H, H3', (H5')), 3.98-3.91 (dd, 2J (H3', (H5')) = 12.2 Hz, 2H, H3', (H5')), 3.39 (t, 3J (OH, H1'') = 6.5 Hz, 1H, OH), 2.26-2.14 (ddd, 2J (H4') = 17.5 Hz, 3J (H4', H3', (H5')) = 7.5 Hz, 1H, H4'), 1.44-1.39 (dd, 3J (H4', H3', (H5')) = 2.6 Hz, 1H, H4'); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 139.1$ (C3), 136.2 (C2), 130.0 (C4), 129.3 (C5), 127.8 (C6), 127.1 (C1), 101.8 (C1'), 67.5 (C3', C5'), 63.0 (C1''), 25.6 (C4'); **MS** (EI⁺): m/z (%): 41.0 (30), 77.0 (C₆H₅), 87.0 (13, C₄H₈O₂), 90.0 (20), 105.0 (16, C₈H₉), 118.0 (81, C₈H₆O), 135.0 (100, C₉H₁₁O), 176.08 (35, C₁₁H₁₂O₂), 194.1 (3, [M]⁺); **HRMS** (EI⁺): m/z (%): 194.09 (2, [M]⁺; ber. für [C₁₁H₁₄O₃]⁺ 194.0943, gef. 194.0892 [M]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 640$ (w), 717 (vw), 744 (w), 844 (vw), 923 (m), 969 (w), 1004 (m), 1035 (w), 1094 (m), 1113 (w), 1146 (w), 1157 (vw), 1240 (vw), 1276 (vw), 1372 (w), 1426 (vw), 1608 (vw), 1735 (vw), 2857 (m), 2946 (w), 3079 (vw), 3293 (br w) cm⁻¹; **Schmelzpunkt**: 39 °C.

5.3.3.3 2-(1,3-Dioxan-2-yl)benzyl chloroformiat (**92**)



Triphosgen (0.79 g, 2.67 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem Ether (10 mL) gelöst, mit Aktivkohle (34 mg) versetzt und 1 h unter Ausschluß von Licht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und tropfenweise zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von **96** (1.10 g, 5.34 mmol, 2.00 eq) in trockenem Ether (10 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und unter Ausschluß von Licht weitere 20 h bei Raumtemperatur gerührt (DC Kontrolle Isohexan/EtOAc 4:1). Nach Filtration über Cellite und Einengen *in vacuo* wurde **92** als rotes Öl erhalten, das unmittelbar weiter umgesetzt wurde.

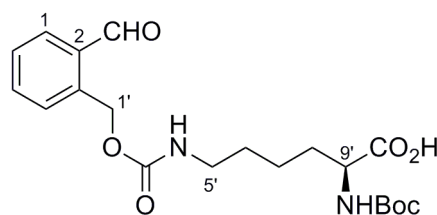
5.3.3.4 *tert*-Butoxycarbonyl-*N*^ε-*o*-1,3-dioxan-2-yl-oxycarbonyl-*L*-lysin (**97**)



Säurechlorid **92** (1.41 g, 5.49 mmol, 1.10 eq) wurde in trockenem THF (17 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Eine auf 0 °C gekühlte Lösung von *N*-Boc-Lys-OH **93** (1.23 g, 4.99 mmol, 1.00 eq) in einem Lösemittelgemisch aus THF und 1 N NaOH (34 mL, 1:1) wurde tropfenweise zugegeben. Das gelb gefärbte Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und unter Lichtausschluß weitere 16 h gerührt (DC Kontrolle EtOAc). Es wurde mit konz. HCl (1 mL) angesäuert und mit CH₂Cl₂ (300 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. Es konnte ein schwach gelbes Öl erhalten werden, das säulenchromatographisch (SiO₂, EtOAc + 1% Eisessig) gereinigt wurde. **97** (1.18 g, 2.87 mmol, 58%) wurde als schwach gelbes Öl isoliert.

DC [EtOAc]: $R_f = 0.20$; **$^1\text{H-NMR}$** (400 MHz, Aceton- d_6): $\delta = 7.58\text{--}6.98$ (m, 4H, H4, H5, H6, H1), 5.69 (s, 1H, H1'), 5.22 (s, 2H, H1''), 4.20–4.10 (m, 1H, H9'), 4.05–3.95 (m, 4H, H3', H5'), 3.23–3.03 (m, 2H, H5''), 1.88–1.66 (m, 2H, H8'), 1.49–1.42 (m, 6H, H4', H6'', H7''), 1.39 (s, 9H, C(CH₃)₃); **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, Aceton- d_6): $\delta = 173.4$ (CO₂H), 171.1 (C3'), 170.0 (HNCOO), 128.3 (C3), 128.0 (C5), 127.2 (C2), 126.2 (C1), 122.9 (C6), 122.1 (C4), 99.7 (C1'), 78.2 (C(CH₃)₃), 67.0 (C3', C5'), 62.6 (C1''), 53.3 (C9'), 40.3 (C5''), 31.3 (C8''), 29.3 (C6''), 27.5 (C(CH₃)₃), 25.7 (C4'), 22.8 (C7''); **MS** (EI⁺): m/z (%): 91.1 (13, C₄H₁₃ON), 105.1 (13, C₅H₁₅ON), 118.1 (47, C₉H₂₀O₃), 176.1 (100, C₉H₂₀O₃), 236.2 (9, C₁₃H₂₀O₂N₂); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 177.09 (13, C₁₁H₁₃O₂), 389.17 (21, C₁₈H₂₆O₆N₂Na), 433.16 (27, C₁₉H₂₆O₈N₂Na), 489.22 (100, [M+Na]⁺; ber. für [C₂₃H₃₄N₂NaO₈]⁺ 489.2207, gef. 489.2206 [M+Na]⁺); (ESI[−]): m/z (%): 197.06 (12, C₈H₉O₄N₂), 347.18 (7, C₁₅H₂₇O₇N₂), 391.157 (57, C₁₉H₂₃O₇N₂), 465.22 (100, [M−H][−]; ber. für [C₂₃H₃₃N₂O₈][−] 465.2242, gef. 465.2233 [M−H][−]), 931.45 (11, [2M−H][−]; ber. für [C₄₆H₆₇N₄O₁₆][−] 931.4558, gef. 931.4542 [2M−H][−]); **IR** (Rein-substanz): $\tilde{\nu} = 706$ (vw), 724 (w), 753 (vs), 866 (vw), 923 (w), 948 (w), 1000 (vs), 1094 (s), 1160 (m), 1238 (m), 1320 (vw), 1367 (m), 1392 (w), 1461 (w), 1524 (br m), 1694 (vs), 2867 (w), 2932 (w), 3340 (br w) cm^{−1}.

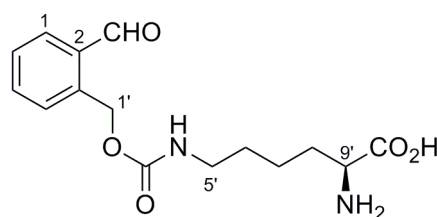
5.3.3.5 *tert*-Butoxycarbonyl-*N*^ε-*o*-formylbenzyloxycarbonyl-*L*-Lysin (**98**)



97 (110 mg, 0.24 mmol, 1.00 eq) wurde in einem Lösemittelgemisch aus CH₃OH und H₂O (v/v = 1:1, 5 mL) gelöst. Es wurde InCl₃ (6 mg, 0.02 mmol, 0.10 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch 4 h unter Rückfluss gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Nach dem Abkühlen wurde mit Ether (25 mL) extrahiert, der Ether-Extrakt mit ges. NaCl-Lösung gewaschen (10 mL), über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingedunstet. Es blieb ein brauner öliger Rückstand, der durch Säulenchromatographie (SiO₂, EtOAc + 1% Eisessig) aufgereinigt wurde. **98** (61 mg, 0.15 mmol, 63%) konnte als oranges Öl isoliert werden.

DC [EtOAc]: $R_f = 0.22$; **$^1\text{H-NMR}$** (400 MHz, Aceton- d_6): $\delta = 10.24$ (s, 1H, CHO), 7.94-6.98 (m, 4H, H4, H5, H6, H1), 5.60 (s, 2H, H1'), 4.16-4.06 (m, 1H, H9'), 3.18-3.10 (m, 2H, H5'), 1.86-1.68 (m, 2H, H8'), 1.43-1.45 (m, 4H, H6', H7'), 1.38 (s, 9H, C(CH₃)₃); **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, Aceton- d_6): $\delta = 192.4$ (CHO), 173.3 (COOH), 156.0 (C3'), 155.6 (HNCOO), 133.7 (C3), 132.2 (C5), 128.0 (C2), 127.8 (C1), 122.9 (C6), 122.1 (C4), 78.2 (C(CH₃)₃), 62.8 (C1'), 53.3 (C9'), 40.2 (C5'), 31.2 (C8'), 29.3 (C6'), 27.5 (C(CH₃)₃), 22.8 (C7'); **MS** (EI⁺): m/z (%): 44.0 (100, C₂H₄O), 77.1 (8, C₆H₅), 84.1 (36), 91.1 (49, C₇H₇), 118.1 (64, C₈H₆O), 127.1 (24), 136.1 (18), 178.2 (22), 207.2 (40), 236.2 (24); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 153.14 (30, C₉H₁₇N₂), 298.22 (24, C₂₀H₂₈ON), 409.20 (40, [M+H]⁺, 409.20 (41, [M+H]⁺); ber. für [C₂₀H₂₉N₂O₇]⁺ 409.1969, gef. 409.1972 [M+H]⁺, 426.22 (66, [M+NH₄]⁺, ber. für [C₂₀H₃₂N₃O₇]⁺ 426.2235, gef. 426.2236 [M+NH₄]⁺, 431.18 (100, [M+Na]⁺; ber. für [C₂₀H₂₈N₂O₇Na]⁺ 431.1794, gef. 431.1790 [M+Na]⁺, 839.37 (26, [2M+Na]⁺; ber. für [C₄₀H₅₆N₄O₁₄Na]⁺ 839.3685, gef. 839.3688 [2M+H]⁺); (ESI⁻): m/z (%): 197.06 (45, C₈H₉O₄N₂), 347.18 (7, C₁₅H₂₇O₇N₂), 407.18 (100, [M-H]⁻; ber. für [C₂₀H₂₆N₂O₇]⁻ 407.1824, gef. 407.1822 [M-H]⁻, 583.27 (6), 815.37 (28, [2M-H]⁻; ber. für [C₄₀H₅₅N₄O₁₄]⁻ 815.3720, gef. 815.3723 [2M-H]⁻); **IR** (Rein-substanz): $\tilde{\nu} = 660$ (w), 703 (vw), 755 (m), 806 (vw), 860 (w), 1011 (w), 1047 (w), 1090 (vw), 1106 (vw), 1061 (m), 1247 (m), 1367 (w), 1393 (vw), 1456 (w), 1524 (br m), 1577 (w), 1602 (w), 1692 (vs), 2867 (w), 2931 (m), 3334 (br w) cm⁻¹.

5.3.3.6 *o*-Formylbenzyloxycarbonyl-*N*^ε-*L*-Lysin (**91**)

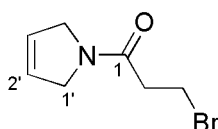


98 (104 mg, 0.25 mmol) wurde in Dioxan/H₂O (v:v = 4:1, 5 mL) gelöst. Zu der roten Lösung wurde konz. HCl (5 mL) gegeben, wobei ein Farbumschlag nach gelb auftrat. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc) und anschließend *in vacuo* eingengt. Es blieb ein fester, oranger Rückstand, der mit trockenem Ether (10 mL) gewaschen und am Hochvakuum getrocknet wurde. **91** konnte als oranger Feststoff isoliert werden, der nicht weiter aufgereinigt werden musste (70 mg, 0.22 mmol, 90%).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.16 (s, 1H, CHO), 7.92-7.52 (m, 4H, H4, H5, H6, H1), 5.40 (s, 2H, H1'), 3.44 (m, 1H, H9'), 2.97 (s, 2H, H5'), 1.77 (s, 2H, H8'), 1.50-1.21 (m, 4H, H6', H7'); **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 193.8 (CHO), 171.4 (CO₂H), 156.2 (CO), 139.5 (C3), 134.5 (C5), 133.5 (C2), 132.7 (C1), 128.6 (C6), 128.3 (C4), 62.9 (C1'), 52.2 (C9'), 30.0 (C5'), 29.2 (2C, C8', C6'), 22.0 (C7'); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 44.0 (90, C₂H₄O), 77.1 (18, C₆H₅), 91.1 (48, C₇H₇), 118.1 (100, C₈H₆O), 130.1 (18), 145.2 (10), 184.2 (8), 218.2 (20); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 215.08 (30, C₇H₁₄O₅NNa), 309.14 (100 [M+H]⁺; ber. für [C₁₅H₂₁O₅N₂]⁺ 309.1445, gef. 309.1444 [M+H]⁺), 328.11 (32), 331.13 (14, [M+Na]⁺; ber. für C₁₅H₂₀O₅N₂Na]⁺ 331.1264, gef. 331.1264 [M+Na]⁺), 617.28 (4, [2M+H]⁺; ber. für [C₃₀H₄₁N₄O₁₀]⁺ 617.2817, gef. 617.2814 [2M+H]⁺). (ESI⁻): *m/z* (%): 278.05 (5, C₁₅H₁₁O₄Na), 307.13 (39, [M-H]⁻; ber. für [C₁₅H₁₉N₂O₅]⁻ 307.1299, gef. 307.1299 [M-H]⁻), 343.11 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₁₅H₂₀ClN₂O₅]⁻ 343.1066, gef. 343.1065 [M+Cl]⁻), 615.27 (14, [2M-H]⁻; ber. für [C₃₀H₃₉N₄O₁₀]⁻ 615.2672, gef. 615.2671 [2M-H]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 660 (w), 758 (m), 861 (w), 1050 (vw), 1133 (brw), 1195 (m), 1252 (m), 1339 (vw), 1524 (m), 1576 (w), 1600 (w), 1689 (vs), 2932 (m) cm⁻¹; **Schmelzpunkt**: 89 °C.

5.3.4 Synthese des azidmodifizierten Pyrrolidin-3,4-diols **99**

5.3.4.1 1-(2-Bromethyl)-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol (102)

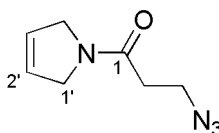


Eine Lösung von **100** (506 mg, 3.30 mmol, 1.00 eq) in trockenem CH₂Cl₂ (1.9 mL, 0.4 M) wurde auf -20 °C gekühlt und mit DCC (154 mg, 3.30 mmol, 1.00 eq) sowie **101** (57.2 μ L, 3.30 mmol, 1.00 eq) versetzt. Die entstandene weiße Suspension wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 18 h gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Nach Filtration über Cellite wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. **102** blieb als weißer Feststoff, der nicht weiter aufgereinigt werden musste (481 mg, 2.36 mmol, 71%).

DC [EtOAc]: *R_f* = 0.32; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ = 5.87 und 5.78 (d, ³*J* (H2') = 6.1 Hz, 2H, H2'), 4.24 (s, 4H, H1'), 3.66 (t, ³*J* (H3, H2) = 7.0 Hz, 2H, H3), 2.86 (t, ³*J* (H2, H3) =

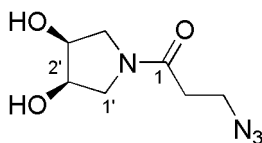
7.0 Hz, 2H, H2); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 168.2 (C1), 124.7 und 126.4 (C2'), 52.9 und 53.3 (C1'), 37.6 (C2), 26.9 (C3);, **MS** (EI^+): m/z (%): 55.0 (14, $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}$), 68.0 (10, $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}$), 96.1 (6, $\text{C}_5\text{H}_6\text{ON}$), 107.0 (13, $\text{C}_2\text{H}_4\text{Br}$), 110.1 (25, $\text{C}_6\text{H}_8\text{ON}$), 124.1 (12, $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{ON}$), 136.9 ($\text{C}_3\text{H}_4\text{OBr}$), 203.0 (20, $[\text{M}]^+$); **HRMS** (EI^+): m/z (%): 202.99 (20, $[\text{M}]^+$; ber. für $[\text{C}_7\text{H}_{10}\text{BrNO}]^+$ 202.9946, gef. 202.9944 $[\text{M}]^+$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 682 (vs), 742 (m), 804 (w), 900 (w), 916 (m), 940 (w), 1017 (w), 1073 (m), 1122 (m), 1198 (w), 1270 (vs), 1318 (vw), 1353 (vw), 1380 (vw), 1419 (w), 1447 (vs), 1579 (w), 1641 (vs), 1725 (vs), 2859 (m), 2928 (w), 2956 (w), 3322 (w) cm^{-1} ; **Schmelzpunkt**: 83 °C.

5.3.4.2 1-(2-Azidoethyl)-2,5-dihydro-1H-pyrrol (103)



102 (135 mg, 0.66 mmol, 1.00 eq) wurde in DMF (5 mL) gelöst und mit NaN_3 (214 mg, 3.29 mmol, 4.99 eq) versetzt. Die entstandene Suspension wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc), anschließend das Lösemittel *in vacuo* entfernt und der verbleibende schwach gelbe Rückstand mit H_2O (20 mL) versetzt. Es wurde mit CH_2Cl_2 (40 mL) extrahiert, mit ges. NaCl-Lösung gewaschen (20 mL), filtriert, über Na_2SO_4 getrocknet und *in vacuo* eingedunstet. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (SiO_2 , EtOAc) konnte **103** (42 mg, 0.25 mmol, 38%) als farbloses Öl erhalten werden.

DC [EtOAc]: R_f = 0.39; **H-NMR** (300 MHz, CDCl_3): δ = 5.90 und 5.80 (d, 3J (H2') = 6.5 Hz, 2H, H2'), 4.25 (s, 4H, H1'), 3.66 (t, 3J (H3, H2) = 6.6 Hz, 2H, H3), 2.52 (t, 3J (H2, H3) = 6.6 Hz, 2H, H2); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 168.2 (C1), 124.7 und 126.4 (C2'), 52.9 und 53.3 (C1'), 47.0 (C2), 33.6 (C3); **MS** (EI^+): m/z (%): 41.3 (27), 56.0 (100, CH_2N_3), 68.1 (42, $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}$), 82.9 (13, $\text{C}_5\text{H}_8\text{N}$), 99.1 (37, $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}$), 138.1 (25, $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{ON}_2$), 166.1 (2, $[\text{M}]^+$); **HRMS** (EI^+): m/z (%): 166.08 (2, $[\text{M}]^+$; ber. für $[\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}]^+$ 166.0855, gef. 166.0842 $[\text{M}]^+$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 673 (s), 808 (w), 836 (vw), 942 (w), 973 (vw), 1000 (w), 1108 (vw), 1199 (m), 1280 (br m), 1357 (m), 1442 (vs), 1618 (vs), 1641 (vs), 1738 (vw), 2097 (vs), 2860 (w), 2906 (vw), 3084 (wv), 3464 (br vw) cm^{-1} .

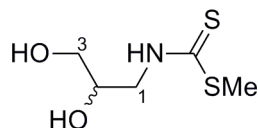
5.3.4.3 (3*R*, 4*S*)-1-(2-Azidoethyl)pyrrolidin-3,4-diol (**99**)

103 (42 mg, 0.25 mmol, 1.00 eq) wurde in einem Lösemittelgemisch aus Aceton, H₂O und *t*-BuOH (7 mL, 5:1.6:4) gelöst. Zu der farblosen Lösung wurde NMO (61 mg, 0.52 mmol, 2.08 eq) sowie K₂OsO₄ (10 mg, 0.03 mmol, 0.12 eq) gegeben, wobei eine braune Suspension entstand. Es wurde 21 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc), dann wurde NaHSO₃ zugegeben und weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zentrifugieren wurde die Lösung abgenommen und mit H₂O (5 mL) und CHCl₃ (10 mL) versetzt. Die wässrige Phase wurde mit CHCl₃ (25 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung (15 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. Verbindung **99** konnte als weißer Feststoff isoliert werden, der nicht weiter aufgereinigt werden musste (41 mg, 0.21 mmol, 82%).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 4.27-4.13 (m, 2H, H2'), 3.74-3.53 (m, 4H, H1'), 3.43 (t, ³*J* (H2, H3) = 6.3 Hz, 2H, H2), 2.56 (t, ³*J* (H3, H2) = 6.3 Hz, 2H, H3); **¹³C-NMR** (100 MHz, CD₃OD): δ = 170.3 (C1), 70.9 und 69.7 (C2'), 50.5 und 50.0 (C1'), 46.6 (C2), 32.8 (C3); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 43.0 (100, C₂H₅N), 103.1 (5, C₄H₉NO₂), 145.1 (54, C₄H₉O₂N₄), 182.1 (42, C₇H₁₀O₂N₄), 200.1 (2, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 201.09 (5, [M+H]⁺; ber. für [C₇H₁₃N₄O₃]⁺ 201.0982, gef. 201.0983 [M+H]⁺), 225.19 (100), 338.27 (34); (ESI⁻): *m/z* (%): 235.06 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₇H₁₂ClN₄O₃]⁻ 235.0603, gef. 235.0604 [M+Cl]⁻); 245.09 (36, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₈H₁₃N₄O₅]⁻ 245.0891, gef. 245.0892 [M+HCOO]⁻), 399.17 (72), 435.15 (86, [2M+Cl]⁻; ber. für [C₁₄H₂₄ClN₈O₆]⁻ 435.1513, gef. 435.1515 [2M+Cl]⁻); (EI⁺): *m/z* (%): 200.09 (2, [M]⁺; ber. für [C₇H₁₂N₄O₃]⁺ 200.0909, gef. 200.0883 [M]⁺); **IR** (Rein-substanz): $\tilde{\nu}$ = 664 (w), 704 (w), 800 (vw), 834 (w), 882 (w), 952 (s), 1015 (m), 1125 (s), 1300 (br m), 1343 (w), 1463 (vs), 1611 (vs), 2102 (vs), 2444 (br vw), 2535 (vw), 2929 (w), 3271 (br vw) cm⁻¹; **Schmelzpunkt**: 49 °C.

5.3.5 Synthese der Methylcarbamodithioate **80** und **111**

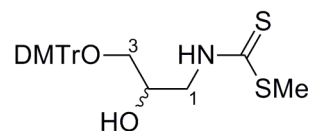
5.3.5.1 Methyl-2,3-dihydroxypropylcarbamodithioat (**80**)¹⁸⁸



81 (5.18 g, 56.85 mmol, 1.00 eq) wurde mit NEt₃ (7.90 mL, 56.85 mmol, 1.00 eq) und EtOH (30 mL) versetzt. Die erhaltene farblose Lösung wurde mit CS₂ (5.40 mL, 56.85 mmol, 1.00 eq) bei 0 °C tropfweise versetzt, wobei sich unmittelbar nach Beendigung der Zugabe eine gelbe Suspension bildete. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 90 min gerührt. Nach Zugabe von H₂O (18 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und CH₃I (3.55 mL, 56.85 mmol, 1.00 eq) langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 3 d gerührt (DC Kontrolle CHCl₃/MeOH 10:1). Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* blieb ein braunes Öl, das säulenchromatographisch (SiO₂, CHCl₃/MeOH 10:1) aufgereinigt wurde. **80** konnte als gelbes Öl erhalten werden (7.51 g, 41,50 mmol, 73%).

DC [CHCl₃/CH₃OH (10:1)]: $R_f = 0.48$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.11$ -4.08 (m, 1H, H₂), 4.05 (m, 1H, H₁), 3.77 (m, 1H, H₁), 3.65-3.60 (m, 2H, H₃), 2.65 (s, 3H, SCH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 200.4$ (CS), 70.0 (C₂), 63.8 (C₃), 49.3 (C₁), 18.3 (SCH₃); **MS** (EI⁺): m/z (%): 43.0 (46), 48.0 (71), 57.0 (23), 61.0 (83, C₂H₅O₂), 73.0 (70), 86.1 (36), 90.9 (24), 108.0 (22, C₃H₈S), 116.0 (27), 133.0 (100, C₄H₇O₂NS), 163.0 (16, C₅H₉ONS, 181.0 (9, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁻): m/z (%): 167.99 (14), 180.02 (20, [M-H]⁻; ber. für [C₅H₁₀NO₂S₂]⁻ 180.0158, gef. 180.0157 [M-H]⁻), 215.99 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₅H₁₁ClNO₂S₂]⁻ 215.9925, gef. 215.9923 [M+Cl]⁻); (EI⁺): m/z (%): 181.02 (9, [M]⁺; ber. für [C₅H₁₁NO₂S₂]⁺ 181.0231, gef. 181.0230 [M]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 834$ (w), 932 (m), 1031 (m), 1071 (w), 1167 (vs), 1276 (w), 1306 (m), 1381 (m), 1472 (w), 1521 (vs), 2922 (m), 3225 (br vs) cm⁻¹.

5.3.5.2 Methyl (3-(bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-2-hydroxypropyl) carbamodithioat (**111**)

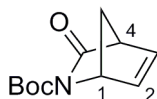


80 (3.57 g, 19.70 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem Pyridin (50 mL) gelöst und portionsweise mit DMTrCl (7.34 g, 22.20 mmol, 1.10 eq) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle Isohexan/EtOAc 2:1) und mit CH₃OH (5 mL) gequenchet. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* und säulenchromatographischer Aufreinigung (SiO₂, Isohexan/EtOAc 2:1 + 0.1% Pyridin) konnte **111** als gelbes Öl erhalten werden (6.00 g, 12.41 mmol, 62%).

DC [Isohexan/EtOAc (2:1)]: $R_f = 0.35$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.78$ (m, 1H, Ar-H), 7.45-7.16 (m, 8H, Ar-H), 6.88-6.83 (m, 4H, Ar-H), 4.09-3.99 (m, 2H, H₃), 3.78 (s, 6H, OCH₃), 3.63 (m, 2H, H₁), 2.65 und 2.62 (s, 3H, SCH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 200.0$ (CS), 158.6 (Ar-C), 148.9 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 144.5 (Ar-C), 139.5 (Ar-C), 135.6 (Ar-C), 130.0 (Ar-C), 127.9 (Ar-C), 127.0 (Ar-C), 124.2 (Ar-C), 113.2 (Ar-C), 86.6 und 81.5 (DMTr-C_{quart}), 70.2 und 69.1 (C₃), 65.1 und 63.9 (C₂), 49.8 und 49.1 (C₁), 55.3 (d, OCH₃), 21.1 und 18.3 (SCH₃); **MS** (EI⁺): m/z (%): 41.1 (11), 43.1 (16), 55.1 (16), 57.1 (26), 69.2 (17), 81.1 (11), 112.2 (15), 197.2 (12), 215.2 (13), 227.2 (36), 245.2 (11), 259.2 (11), 271.2 (11, C₂₁H₁₉), 273.2 (16, C₂₁H₂₁), 288.2 (63, C₂₁H₂₀O), 303.3 (100, C₂₁H₁₉O₂); **HRMS** (ESI⁻): m/z (%): 195.99 (10, C₁₂H₄OS), 434.14 (44, C₂₅H₂₄O₄NS), 482.1453 (100, [M-H]⁻; ber. für [C₂₆H₂₈NO₄S₂]⁻ 482.1465, gef. 482.1453 [M-H]⁻), 518.12 (9, [M+Cl]⁻; ber. für [C₂₆H₂₉ClNO₄S₂]⁻ 518.1232, gef. 518.1221 [M+Cl]⁻); (ESI⁺): m/z (%): 303.14 (100, C₂₁H₁₉O₂), 506.14 (30, [M+Na]⁺; ber. für [C₂₆H₂₉O₄NNaS₂]⁺ 506.1430, gef. 506.1430 [M+Na]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 700$ (m), 726 (w), 753 (w), 789 (vw), 826 (m), 900 (vw), 943 (br w), 1031 (s), 1069 (vw), 1114 (w), 1155 (w), 1174 (s), 1245 (vs), 1297 (br m), 1385 (vw), 1412 (vw), 1443 (w), 1462 (w), 1506 (s), 1582 (w), 1606 (m), 2839 (vw), 2999 (vw), 3343 (br w) cm⁻¹.

5.3.6 Synthese des Phosphoramidits **63** für die DNA-Synthese

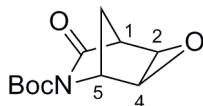
5.3.6.1 *tert*-Butyl-(1*R*,4*S*)-3-oxo-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carboxylat (**67**)¹⁴³



60 (20.00 g, 0.18 mol, 1.00 eq) wurde in trockenem THF (600 mL) gelöst. Zu der farblosen Lösung wurde Boc_2O (78.50 mL, 0.36 mol, 2.00 eq) sowie DMAP (22.40 g, 0.18 mol, 1.00 eq) gegeben, wobei ein Farbumschlag nach orange auftrat. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur für 3 h gerührt. (DC-Kontrolle Toluol/EtOAc 2:1). Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde ein oranger Rückstand erhalten, der säulenchromatographisch (SiO_2 , Toluol/EtOAc 2:1) aufgereinigt wurde. **67** konnte als gelber Feststoff isoliert werden (36.55 g, 0.17 mol, 94%).

DC [Toluol/EtOAc (2:1)]: $R_f = 0.41$; **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 6.86\text{--}6.83$ (m, 1H, H2), 6.64–6.59 (m, 1H, H3), 4.93–4.89 (m, 1H, H1), 3.35–3.32 (m, 1H, H4), 2.32 (d, 2J (H7_b, H7_a) = 8.5 Hz, 1 H, H7_b), 2.12 (d, 2J (H7_a, H7_b) = 8.5 Hz, 1 H, H7_a), 1.45 (s, 9H, ^tBu); **$^{13}\text{C-NMR}$** (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 175.2$ (C5), 154.4 (C(CH₃)₃CO), 139.9 (C2), 138.1 (C3), 82.4 (C(CH₃)₃), 62.3 (C1), 54.8 (C7), 54.3 (C4), 27.9 (CH₃); **MS** (EI^+): m/z (%): 41.0 (6), 47.0 (5), 57.1 (52), 66.1 (100), 83.0 (68), 108.1 (6, C₇H₈O), 209.1 (1, [M]⁺); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 227.14 (14, [M+NH₄]⁺; ber. für [C₁₁H₁₉N₂O₃]⁺ 227.1390, gef. 227.1393 [M+NH₄]⁺, 273.12 (16), 436.24 (15, [2M+NH₄]⁺; ber. für [C₂₂H₃₄N₃O₆]⁺ 436.2442, gef. 236.2438 [2M+NH₄]⁺, 441.20 (100, [2M+Na]⁺; ber. für [C₂₂H₃₀N₂NaO₆]⁺ 441.1996, gef. 441.1993 [2M+Na]⁺); (EI^+): m/z (%): 209.10 (1, [M]⁺; ber. für [C₁₁H₁₅NO₃]⁺ 209.1046, gef. 209.1071 [M]⁺); **IR** (Rein-substanz): $\tilde{\nu} = 656$ (w), 705 (m), 764 (s), 777 (m), 833 (vw), 847 (m), 855 (s), 887 (w), 904 (w), 936 (w), 964 (vw), 994 (m), 1017 (vw), 1041 (vw), 1085 (m), 1121 (m), 1135 (m), 1152 (vs), 1165 (m), 1194 (w), 1222 (vw), 1252 (m), 1305 (vs), 1330 (s), 1364 (m), 1392 (w), 1458 (w), 1704 (vs), 1750 (s), 2931 (vw), 2975 (w), 2997 (vw), 3028 (vw), 3070 (vw), 3394 (br vw) cm^{-1} ; **Schmelzpunkt**: 81°C.

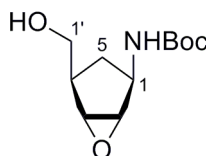
5.3.6.2 *tert*-Butyl-(1*S*,2*R*,4*S*,5*R*)-7-oxo-3-oxa-6-azatricyclo[3.2.1.0^{2,4}]octan-6-carboxylat (**68**)¹⁴³



Carbamat **67** (8.83 g, 42.20 mmol, 1.00 eq) wurde in CH₂Cl₂ (350 mL) gelöst. Zu der schwach gelben Lösung wurde *m*CPBA (26.10 g, 0.11 mol, 2.55 eq) gegeben, wobei eine Entfärbung beobachtet wurde. Die entstandene Suspension rührte 44 h bei Raumtemperatur und wurde anschließend je dreimal mit ges. Na₂CO₃-Lösung, ges. NaHCO₃-Lösung und H₂O gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄, Filtration und Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch (SiO₂, Toluol/EtOAc 2:1) gereinigt. Das Produkt **68** (7.03 g, 31.20 mmol, 74%) wurde als weißer Feststoff erhalten.

DC [Toluol/EtOAc (2:1)]: $R_f = 0.42$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.63$ (m, 1H, H5), 3.78 (dd, 3J (H4, H2) = 2.8 Hz, 3J (H4, H5) = 1.4 Hz, 1H, H4), 3.62 (dd, 3J (H2, H4) = 2.8 Hz, 3J (H2, H1) = 1.4 Hz, 1H, H2), 3.06 (m, 1H, H1), 1.84-1.80 (m, 1H, H8_b), 1.66-1.62 (m, 1H, H8_a), 1.53 (s, 9H, ^{*t*}Bu); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 173.2$ (C7), 149.6 (C(CH₃)₃CO), 83.4 (C(CH₃)₃), 59.4 (C5), 53.2 (C4), 49.3 (C2), 48.3 (C1), 28.0 (CH₃), 27.0 (C8); **MS** (EI⁺): m/z (%): 43.1 (2), 57.1 (100, C₄H₉), 81.0 (4), 82.9 (100, C₆H₁₁), 96.0 (4), 111.0 (2), 138.9 (C₅HO₄N), 152.0 (2), 205.2 (26, C₁₁H₁₁NO₃), 210.2 (C₁₁H₁₆NO₃), 225.2 (9, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 211.07 (15), 227.14 (21), 243.13 (64, [M+NH₄]⁺; ber. für [C₁₁H₁₉N₂O₄]⁺ 243.1339, gef. 243.1340 [M+NH₄]⁺), 289.11 (76), 457.19 (30), 468.23 (10, [2M+NH₄]⁺; ber. für [C₂₂H₃₄N₃O₈]⁺ 468.2340, gef. 468.2346 [2M+NH₄]⁺), 473.19 (100, [2M+Na]⁺; ber. für [C₂₂H₃₀N₂NaO₈]⁺ 473.1894, gef. 473.1893 [2M+Na]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 653$ (w), 667 (w), 719 (m), 748 (s), 770 (m), 808 (vw), 897 (w), 933 (m), 990 (vw), 1007 (m), 1075 (vw), 1117 (m), 1139 (m), 1195 (vw), 1213 (w), 1258 (m), 1303 (s), 1368 (m), 1392 (vw), 1574 (w), 1698 (s), 1702 (s), 1764 (s), 2934 (vw), 2981 (br w), 3074 (br vw) cm⁻¹; **Schmelzpunkt**: 125°C.

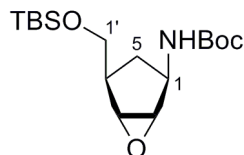
5.3.6.3 *tert*-Butyl-((1*S*,2*R*,4*R*,5*R*)-4-(hydroxymethyl)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexan-2-yl)carbamate (**69**)¹⁴³



Epoxid **70** (6.55 g, 30.00 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem Methanol (350 mL) gelöst und bei 0 °C portionsweise mit NaBH₄ (8.25 g, 220.00 mmol, 7.50 eq) versetzt. Das Reaktionsgemisch rührte bei 0 °C weiter bis vollständiger Umsatz stattgefunden hatte (DC-Kontrolle Toluol/EtOAc 2:1). Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und vorsichtig mit Eisessig neutralisiert (pH 7, Kontrolle mit pH-Papier). Nach Zugabe von ges. NH₄Cl-Lösung (200 mL) wurde mit CHCl₃ extrahiert, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Der Alkohol **69** wurde als farbloser, öliger Rückstand erhalten und ohne weitere Aufreinigung umgesetzt (6.67 g, 29.10 mmol, 97%).

DC [Toluol/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.28$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.97$ (m, 1H, NH), 4.34-4.14 (m, 1H, H1), 3.89-3.81 (dd, 2J (H1'_b, H1'_a) = 10.1 Hz, 3J (H1'_b, H4) = 2.1 Hz, 1H, H1'_b), 3.65-3.59 (dd, 2J (H1'_a, H1'_b) = 10.1 Hz, 3J (H1'_a, H4) = 3.5 Hz, 1H, H1'_a), 3.43-3.39 (m, 2H, H2, H3), 2.37-2.34 (dd, 3J (H4, H1'_a) = 3.5 Hz, 3J (H4, H1'_b) = 2.1 Hz, 1H, H4), 2.10-2.02 (m, 1H, H5_a), 1.46-1.40 (m, 1H, H5_b), 1.43 (s, 9H, ^tBu); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 155.6$ (HNCOOR), 79.3 (C(CH₃)₃), 62.1 (C1'), 59.9 (C2), 59.4 (C3), 49.7 (C1), 40.3 (C4), 32.8 (C5); **MS** (EI⁺): m/z (%): 57.1 (44, C₄H₉), 82.9 (100), 85.0 (63), 98.1 (36), 127.2 (22), 130.1 (30), 149.1 (100), 174.2 (25, C₇H₁₂NO₄), 229.2 (1, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 105.04 (15, C₃H₇O₃N), 174.08 (72, C₇H₁₂O₄N), 252.12 (100, [M+Na]⁺; ber. für [C₁₁H₁₉NaNO₄]⁺ 252.1206, gef. 252.1205 [M+Na]⁺); (ESI⁻): m/z (%): 264.10 (44, [M+Cl]⁻; ber. für [C₁₁H₁₉ClNO₄]⁻ 264.1009, gef. 264.1024 [M+Cl]⁻), 274.13 (100, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₁₂H₂₀NO₆]⁻ 274.1296, gef. 274.1311 [M+HCOO]⁻), 288.15 (35, [M+H₃CCOO]⁻; ber. für [C₁₃H₂₂NO₆]⁻ 288.1453, gef. 288.1472 [M+H₃CCOO]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 670$ (vw), 720 (m), 751 (s), 770 (s), 802 (w), 816 (w), 853 (vs), 892 (w), 934 (m), 971 (vw), 990 (vw), 1007 (s), 1117 (s), 1150 (s), 1194 (vw), 1213 (m), 1256 (m), 1302 (vs), 1329 (s), 1368 (m), 1390 (vw), 1461 (w), 1573 (w), 1596 (vw), 1702 (vs), 1763 (s), 2981 (w) cm⁻¹.

5.3.6.4 *tert*-Butyl-*N*-[(1*S*,2*R*,4*R*,5*R*)-4-[(*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl]-6-oxabicyclo[3.1.0]hex-2-yl]carbamat (**70**)¹⁴³



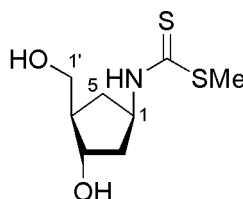
69 (6.58 g, 0.028 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem DMF (150 mL) gelöst und mit Imidazol (4.30 g, 0.063 mol, 2.25 eq) sowie TBSCl (9.52 g, 0.063 mol, 2.25 eq) versetzt. Nachdem das Reaktionsgemisch 2 h bei Raumtemperatur gerührt wurde (DC-Kontrolle Toluol/EtOAc 2:1), wurde EtOAc (300 mL) zugegeben und je dreimal mit ges. NaHCO₃-Lösung (150 mL) sowie ges. NaCl-Lösung (150 mL) gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und filtriert, anschließend wurde *in vacuo* eingeeengt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (SiO₂, Toluol/EtOAc 6:1) konnte **69** (6.40 g, 0.019 mol, 62%) als stark hygroskopischer Feststoff erhalten werden.

DC [Toluol/EtOAc (6:1)]: $R_f = 0.42$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.71$ (m, 1H, NH), 4.33-4.23 (m, 1H, H2), 3.92-3.87 (dd, 3J (H1'_b, H4) = 2.3 Hz, 2J (H1'_b, H1'_a) = 10.4 Hz, 1H, H1'_b), 3.69-3.64 (dd, 3J (H1'_a, H4) = 3.0 Hz, 2J (H1'_a, H1'_b) = 10.4 Hz, 1H, H1'_a), 3.42 d, 3J (H1, H5) = 2.2 Hz, 1H, H1), 3.38 (d, 3J (H5, H1) = 2.2 Hz, 1H, H5), 2.41-2.35 (m, 1H, H4), 2.18-2.07 (m, 1H, H3_a), 1.46 (s, 9H, ^{*t*}Bu), 1.43-1.37 (m, 1H, H3_b), 0.9 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.16 (s, 6H, Si(CH₃)); **¹³C-NMR** (50 MHz, CDCl₃): $\delta = 155.3$ (RNHC(=O)OR), 79.1 (OC(CH₃)₃), 64.8 (C1'), 59.8 (C1), 59.4 (C5), 49.6 (C2), 40.8 (C4), 33.4 (C3), 28.4 (OC(CH₃)₃), 26.1 (SiC(CH₃)₃), 18.7 (Si(CH₃)₃), -5.4 (SiCH₃); **MS** (EI⁺): m/z (%): 57.1 (60, C₄H₉), 75.1 (30), 105.1 (9), 169.1 (19), 186.2 (12), 230.2 (100, C₁₂H₂₆O₂Si), 270.3 (8), 300.3 (34, C₁₄H₂₆NO₄Si), 315.3 (50, C₁₅H₂₉NO₄Si); **HRMS** (ESI⁻): m/z (%): 154.99 (100), 255.23 (5), 325.14 (13), 342.21 (24, (*M*-H)⁻; ber. für [C₁₇H₃₂NO₄Si]⁻ 342.2106, gef. 342.2103 [*M*-H]⁻), 378.19 (98, [*M*+Cl]⁻; ber. für [C₁₇H₃₃ClNO₄Si]⁻ 378.1873, gef. 378.1869 [*M*+Cl]⁻), 524.30 (14), 721.40 (23, [2*M*+Cl]⁻; ber. für [C₃₄H₆₆ClN₂O₈Si₂]⁻ 721.4052, gef. 721.4040 [2*M*+Cl]⁻); (ESI⁺): m/z (%): 239.23 (6, C₁₅H₂₉ON), 244.17 (13, C₁₂H₂₆O₂NSi), 288.16 (75, C₁₃H₂₆O₄NSi), 305.19 (100, C₁₇H₂₇O₂NSi), 310.14 (60, C₁₅H₂₄O₄NSi), 344.23 (40, [*M*+H]⁺; ber. für [C₁₇H₃₄NO₄Si]⁺ 344.2257, gef. 344.2254 [*M*+H]⁺), 366.21 (54, [*M*+Na]⁺; ber. für [C₁₇H₃₃NO₄SiNa]⁺ 366.2077, gef. 366.2073 [*M*+Na]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 664$ (w), 696

DC [CHCl₃/CH₃OH (10:1)]: $R_f = 0.19$; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.78$ (s, 1H, NH), 4.08-3.96 (m, 2H, H1, H3), 3.60-3.48 (dd, 2J (H1'_a, H1'_b) = 10.8 Hz, 3J (H1'_a, H4) = 6.2 Hz, 2H, H1'_a, H1'_b), 2.26-2.18 (m, 1H, H5_a), 1.98-1.65 (m, 3H, H2_a, H2_b, H4), 1.42 (s, 9H, ^tBu), 1.19-1.11 (m, 1H, H5_b); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 156.5$ (RNHCOOR), 78.4 (OC(CH₃)₃), 72.7 (C3), 63.4 (C1'), 49.0 (C1), 48.2 (C4), 40.9 (C2), 34.2 (C5), 27.4 (OC(CH₃)₃); **MS** (EI⁺): m/z (%): 57.1 (100, C₄H₉), 83.0 (22, C₆H₁₁), 199.3 (56, C₁₀H₁₇NO₃), 213.3 (40, C₁₁H₁₉NO₃), 227.3 (34, C₁₁H₂₁NO₃), 231.2 (86, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁻): m/z (%): 154.99 (1, C₇H₄O₂Cl), 266.12 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₁₁H₂₁O₄NCl]⁻ 266.1165, gef. 266.1171 [M+Cl]⁻), 276.15 (4, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₁₂H₂₂NO₆]⁻ 276.1453, gef. 276.1467 [M+HCOO]⁻); (EI⁺): m/z (%): 231.15 (1, [M]⁺; ber. für [C₁₁H₂₁O₄N]⁺ 231.1465, gef. 231.1469

$[M]^+$; **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 746 (vw), 768 (vw), 778 (vw), 829 (w), 855 (w), 867 (w), 883 (vw), 916 (m), 977 (m), 1014 (s), 1040 (w), 1049 (m), 1080 (w), 1090 (w), 1109 (m), 1158 (s), 1220 (w), 1242 (w), 1279 (s), 1333 (w), 1363 (m), 1503 (w), 1519 (vw), 1524 (s), 1682 (s), 2887 (vw), 2965 (vw), 2981 (w), 3279 (br m), 3372 (m) cm^{-1} ; **Schmelzpunkt**: 124-127°C.

5.3.6.6 Methyl-((1*R*,3*R*,4*R*)-3-hydroxy-4-(hydroxymethyl)cyclopentyl)-carbamodithioat (**58**)



61 (200 mg, 0.86 mmol, 1.00 eq) wurde mit H_2O (8 mL) versetzt. Nach sorgfältigem entgasen wurde die Suspension 12 h bei 100 °C gerührt. Die entstandene gelbe Lösung wurde nach dem Abkühlen an der Lyophilie über Nacht getrocknet. Es blieb das Amin **59** als gelbes Öl (113 mg, quantitative Umsetzung), das in entgastem EtOH (10 mL) gelöst wurde. Zu der gelben Lösung wurde **72** (137 mg, 0.86 mmol, 1.00 eq) gegeben. Unter Ausschluß von Sauerstoff wurde 3 h unter Rückfluss gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Das Lösemittel wurde *in vacuo* entfernt und der erhaltene ölige Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2 , EtOAc) gereinigt. **58** konnte als farbloses Öl isoliert werden (140 mg, 0.63 mmol, 73% über 2 Stufen).

DC [EtOAc]: R_f = 0.23; **$^1\text{H-NMR}$** (600 MHz, CDCl_3): δ = 8.25, 7.81 (br s, 1H, NH), 5.00, 4.22 (m, 1H, H3), 4.29-4.16 (m, 2H, H5), 3.88-3.76 (m, 1H, H1'_a), 3.66-3.56 (m, 1H, H1'_b), 2.45 (m, 1H, H2_b), 2.13-2.05 (m, 2H, H1, H4), 2.67 (s, 3H, SCH_3), 1.37 (m, 1H, H2_a); **$^{13}\text{C-NMR}$** (150 MHz, CDCl_3): δ = 197.6 (CS), 74.8, 74.7 (C3), 65.0, 64.2 (C1'), 55.8, 54.0 (C3), 48.3, 48.0 (C1), 42.2, 41.5 (C4, C2), 34.4, 33.8 (C5), 19.0, 18.0 (SCH_3); **MS** (EI^+): m/z (%): 44.0 (15), 91.0 (100, $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{S}$), 106.9 (11, $\text{C}_2\text{H}_5\text{NS}_2$), 116.1 (40, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$), 155.8 ($\text{C}_5\text{O}_2\text{S}_2$), 158.0 ($\text{C}_9\text{H}_2\text{OS}$) 206.9 (30, $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{NO}_2\text{S}_2$), 221.01 (4, $[M]^+$); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 102.13 (9), 173.93 (100), 222.06 (35, $[M+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_8\text{H}_{16}\text{NO}_2\text{S}_2]^+$ 222.0617, gef. 222.0617 $[M+\text{H}]^+$), 299.18 (30); (ESI^-): m/z (%): 142.03 (10), 220.05 (53, $[M-\text{H}]^-$; ber. für $[\text{C}_8\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{S}_2]^-$ 220.0471, gef. 220.0473 $[M-\text{H}]^-$), 256.02 (100, $[M+\text{Cl}]^-$; ber. für $[\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_2\text{S}_2\text{Cl}]^-$ 256.0238, gef. 256.0237 $[M+\text{Cl}]^-$), 299.18 (30); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ =

668 (vw), 727 (vw), 883 (vw), 951(w) , 1015(m)1038 (m), 1161 (w), 1250 (vw), 1307 (vw), 1342 (m), 1366 (m), 1437 (vw), 1512 (br m), 1683 (m), 2108 (brm), 2873 (vw), 2924 (m), 3304 (br s)cm⁻¹.

Die Zwischenstufe **59** wurde massenspektrometrisch nachgewiesen: **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 45.1 (67), 56.0 (54), 69.1 (18, C₅H₉), 72.0 (100, C₃H₆ON), 86.1 (37, C₄H₈ON), 100.1 (C₅H₁₀ON), 131.1 (2, [M]⁺); **HRMS** (EI⁺): *m/z* (%): 131.09 (2, [M]⁺; ber. für [C₆H₁₃NO₂]⁺ 131.0946, gef. 131.0929 [M]⁺).

Zur Bestimmung des Extinktionskoeffizienten wurde das UV/Vis-Spektrum von **58** in H₂O (0.1 mM) aufgenommen (Abb. **107**).

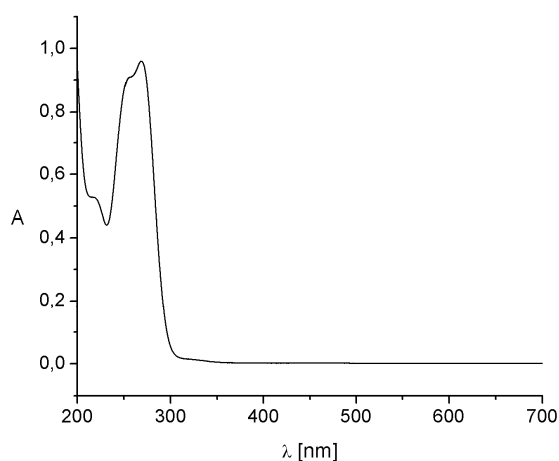
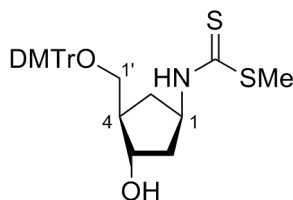


Abb. **107**: UV/Vis-Spektrum der Verbindung **58** in H₂O (0.1 mM).

5.3.6.7 Methyl-3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-hydroxycyclopentylcarbamodithioat (**62**)

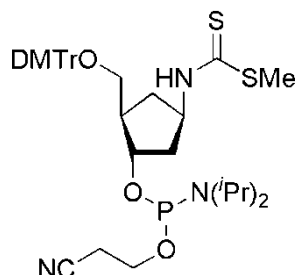


58 (0.88 g, 4.00 mmol, 1.00 eq) wurde mit trockenem Pyridin coevaporiert (2·10 mL) und anschließend in trockenem Pyridin (30 mL) gelöst. Zu der farblosen Lösung wurde innerhalb eines Zeitraums von 10 min DMT-Cl (1.42 g, 4.20 mmol, 1.05 eq) portionsweise gegeben, wobei eine intensive Gelbfärbung beobachtet werden konnte. Das Reaktionsgemisch rührte 2 h bei Raumtemperatur (DC-Kontrolle EtOAc), wurde mit Methanol (1 mL) gequencht und *in vacuo* eingengt. Der erhaltene Rückstand wurde säulenchromatographisch (SiO₂, Isohexan/EtOAc 1:1 + 1% Pyridin) gereinigt. Nach Entfernung restlichen Pyridins mittels azeotroper Destillation mit Toluol (3·10 mL) und Trocknung im Hochvakuum konnte **62** als gelber Schaum erhalten werden (1.47 g, 2.80 mmol, 70%).

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.67$; **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.59, 7.96$ (m, 1H, NH), 7.45-7.40 (m, 4H, Ar-H), 7.34-7.27 (m, 4H, Ar-H), 7.24-7.15 (m, 1H, Ar-H), 6.86-6.81 (m, 4H, Ar-H), 4.99, 4.55-4.40 (m, 1H, H₃), 4.30-4.16 (m, 2H, H₅), 3.92-3.84 (m, 1H, H1'_a), 3.68-3.62 (m, 1H, H1'_b), 2.66, 2.59 (s, 3H, SCH₃), 2.43 (m, 1H, H_{2b}), 2.18-1.99 (m, 2H, H₁, H₄), 1.55-1.46 (m, 1H, H_{2a}); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 158.6, 158.5$ (CS), 147.3 (Ar-C), 144.9, 144.7 (Ar-C), 139.5 (Ar-C), 132.6, 136.1 (Ar-C), 135.9, 135.7 (Ar-C), 130.1, 130.0 (Ar-C), 129.1 (Ar-C), 128.2 (Ar-C), 128.0, 127.9 (Ar-C), 127.8, 127.7 (Ar-C), 127.0, 126.9 (Ar-C), 113.2, 113.0 (Ar-C), 86.4, 81.4 (DMTr-C_{quart.}), 75.0 (C₃), 65.9, 65.5 (C1'), 55.2, 55.1 (OCH₃), 53.7, 51.9 (C1), 46.7 (C4), 41.6 (C2), 35.4 (C5), 20.3, 18.1 (SCH₃); **MS** (EI⁺): m/z (%): 41.0 (37), 79.0 (3), 105.0 (5, C₂H₄NS₂), 127.2 (6, C₈H₁₇N), 135.1 (8, C₃H₃O₄S), 152.0 (3), 165.0 (3), 195.0 (5), 202.0 (3), 215.0 (3), 227.2 (8), 244.9 (3), 288.0 (4), 303.3 (100, C₂₁H₁₉O₂), 319.3 (3), 398.3 (3), 475.4 (3, C₂₉H₃₃NO₃S); **HRMS** (ESI⁻): m/z (%): 474.17 (5), 510.15 (35), 522.18 (80, [M-H]⁻; ber. für [C₂₉H₃₂NO₄S₂]⁻ 522.1778, gef. 522.1767 [M-H]⁻), 558.15 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₂₉H₃₃ClNO₄S₂]⁻ 558.1545, gef. 558.1531 [M+Cl]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 700$ (w), 726 (w), 754 (w), 826 (m), 901 (vw), 1030 (m), 1065 (w), 1113

(vw), 1173 (*m*), 1246 (*s*), 1299 (*m*), 1347 (*w*), 1443 (*w*), 1462 (*w*), 1506 (*s*), 1581 (*w*), 1607 (*m*), 2105 (*br m*), 2835 (*w*), 2868 (*w*), 2930 (*w*), 2957 (*w*), 3364 (*br w*) cm^{-1} ; **Schmelzpunkt:** 74 °C.

5.3.6.8 Phosphoramidit 63



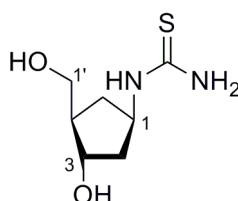
62 (106 mg, 0.20 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem CH_2Cl_2 (2 mL) gelöst. Die gelbe Lösung wurde sorgfältig entgast und bei Raumtemperatur *via* Spritze (*Hamilton*) tropfenweise mit entgaster Hünig-Base (177 μL , 1.00 mmol, 5.00 eq) sowie CEDCl (54 μL , 0.24 mmol, 1.20 eq) versetzt, wobei eine sofortige Entfärbung eintrat. Die farblose Lösung wurde 45 min bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle Isohexan/EtOAc 1:1), anschließend die Reaktion durch Zugabe von entgastem CH_3OH (0.1 mL) gestoppt. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der ölige Rückstand in entgastem EtOAc (1 mL) aufgenommen, der dabei entstandene Niederschlag wurde abgetrennt und verworfen. Die verbleibende schwach gelbe Lösung wurde zweimal über eine GHP Membran (0.2 μm , *Pall Life Sciences*) filtriert, mit wenig entgastem Ether versetzt und *in vacuo* eingengt. Das Phosphoramidit **63** wurde nach Trocknung am Hochvakuum als farbloser Schaum erhalten (76 mg, 0.11 mmol, 52%) und unmittelbar für die DNA-Synthese weiter eingesetzt.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.45-7.20 (m, 13H, Ar-H), 5.01-4.46 (m, 3H, H3, H5), 3.90-3.83 (m, 1H, H1'_a), 3.79 (s, 6H, OCH_3), 3.77-3.52 (m, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$, H1'_b), 3.20-3.11 (m, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$, $^i\text{PrCH}$), 2.66, 2.63 (SCH₃), 2.49-2.41 (m, 1H, H2_b), 2.29-2.23 (m, 2H, H1, H4), 1.44 (m, 1H, H2_a), 1.18, 1.16 (d, 3J ($^i\text{PrCH}_3$, $^i\text{PrCH}$) = 6.9 Hz, 6H, $^i\text{PrCH}_3$); **$^{31}\text{P-NMR}$** (200 MHz, CDCl_3): δ = 150.6, 150.4; **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 303.14 (100, $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{O}_2$), 441.22 (57), 577.36 (39), 676.30 (45), 746.28 (24, $[\text{M}+\text{Na}]^+$; ber. für $[\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{NaO}_5\text{PS}_2]^+$ 746.2822, gef. 746.2830 $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 844.43 (14); (ESI^-): m/z (%): 758.26

(100, $[M+Cl]^-$; ber. für $[C_{38}H_{50}ClN_3O_5PS_2]^-$ 758.2624, gef. 758.2617 $[M+Cl]^-$), 1481.55 (8, $[2M+Cl]^-$; ber. für $[C_{76}H_{100}ClN_6O_{10}P_2S_4]^-$ 1481.5553, gef. 1481.5497 $[2M+Cl]^-$).

5.3.7 Synthese eines Thioharnstoff-Derivats mit carbozyklischem Rückgrat

5.3.7.1 1-((1*R*,3*R*,4*R*)-3-hydroxy-4-(hydroxymethyl)cyclopentyl)thioharnstoff (83)



58 (28 mg, 0.13 mmol) wurde mit NH_4OH (50 μ L) versetzt. Die erhaltene gelbe Lösung wurde fest verschlossen und bei 60 °C für 3 h gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch *in vacuo* eingedunstet, der verbleibende ölige Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie gereinigt (RP SiO_2 , $H_2O \rightarrow CH_3CN/H_2O$ 1:10). Produkt **84** wurde nach Trocknung an der Lyophilie über Nacht als farbloses Öl erhalten (19 mg, 0.10 mmol, 79%).

1H -NMR (400 MHz, D_2O): δ = 4.44 (m, 1H, H1), 3.98-3.86 (m, 1H, H3), 3.54-3.49 (dd, 2J (H1'_a, H1'_b) = 11.1 Hz, 3J (H1'_a, H4) = 6.7 Hz, 1H, H1'_a), 3.45-3.40 (dd, 2J (H1'_b, H1'_a) = 11.1 Hz, 3J (H1'_b, H4) = 6.0 Hz, 1H, H1'_b), 2.29-2.19 (m, 1H, H5_a), 1.92-1.86 (d, 3J (H4, H1'_a) = 6.7 Hz, 1H, H4), 1.79-1.66 (m, 2H, H2), 1.22-1.06 (m, 1H, H5_b); **^{13}C -NMR** (150 MHz, D_2O): δ = 177.3 (CS), 72.8 (C3), 63.1 (C1'), 53.4 (C1), 48.0 (C4), 39.5 (C2), 33.2 (C5); **MS** (El^+): m/z (%): 41.1 (100, C_3H_5), 55.0 (17), 69.0 (14), 76.9 (24, HON_2S), 83.0 (10, C_5H_7O), 123.0 (10), 127.1 (6), 190.1 (10, $[M]^+$); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 105.04 (6, $C_6H_5N_2$), 191.08 (100, $[M+H]^+$); ber. für $[C_7H_{15}N_2O_2S]^+$ 191.0849, gef. 191.0848 $[M+H]^+$; (ESI^-): m/z (%): 155.08 (26, $C_7H_{11}O_2N_2$), 189.07 (100, $[M-H]^-$); ber. für $[C_7H_{13}N_2O_2S]^-$ 189.0703, gef. 189.0704 $[M-H]^-$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 792 (w), 932 (vw), 1031 (m), 1158 (w), 1299 (w), 1356 (w), 1433 (m), 1528 (s), 1619 (m), 2873 (w), 2928 (w), 3186 (vs), 3280 (vs) cm^{-1} .

Zur Bestimmung des Extinktionskoeffizienten wurde das UV/Vis-Spektrum von **83** in H₂O (0.1 mM) aufgenommen (Abb. 108).

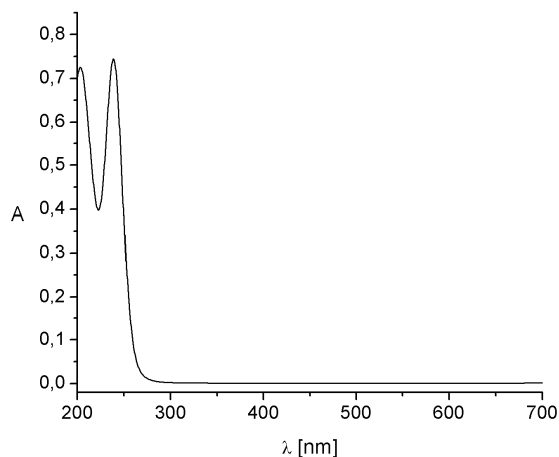
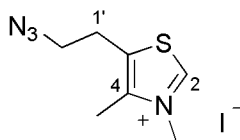


Abb. 108: UV/Vis-Spektrum der Verbindung **83** in H₂O (0.1 mM).

5.3.8 Synthese der Verbindungen **38**, **39** und **40** für die Click Chemie

5.3.8.1 5-(2-Azidoethyl)-4-methylthiazoliumiodid (**40**)

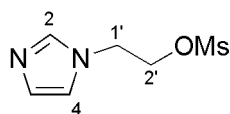


48 (1.00 g, 5.94 mmol, 1.00 eq) wurde in CH₃CN (10 mL) gelöst. Zu der Lösung wurde CH₃I (3.70 mL, 59.40 mmol, 10.00 eq) getropft, dann wurde die erhaltene gelbe Lösung fest verschlossen und 3 d bei Raumtemperatur (DC Kontrolle EtOAc) gerührt. Nach Entfernen von überschüssigem CH₃I sowie CH₃CN im N₂-Strom über Nacht blieb ein schwach gelber Rückstand, der mit kaltem CH₃CN (25 mL) gewaschen wurde. Nach Trocknung im Hochvakuum wurde **40** (1.10 g, 3.55 mmol, 60%) als farbloser Feststoff isoliert.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.00 (s, 1H, H2), 4.07 (s, 3H, N-CH₃), 3.63 (t, ³*J* (H2', H1') = 6.5 Hz, 2H, H2'), 3.17 (t, ³*J* (H1', H2') = 6.5 Hz, 2H, H1'), 2.43 (s, 3H, C4-CH₃); **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 157.4 (C2), 143.7 (C4), 134.0 (C5), 50.9 (C1'), 40.9 (N-CH₃), 26.3 (C2'), 11.8 (C4-CH₃); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 58.1 (8), 85.1 (8, C₃H₃NS), 112.1 (22), 127.0 (30), 142.0 (100, C₇H₁₂NS); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 127.05 (7, C₆H₉NS), 155.06 (15,

$C_7H_{11}N_2S$), 183.07 (100, $[M]^+$; ber. für $[C_7H_{11}N_4S]^+$ 183.0699, gef. 183.0694 $[M]^+$), 248.2 (15); (ESI $^-$): m/z (%): 126.90 (100, I^-), 436.88 (55, $[M+2I]^-$; ber. für $[C_7H_{11}I_2N_4S]^-$ 436.8799, gef. 436.8795 $[M+2I]^-$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 564 (s), 578 (s), 620 (m), 761 (vw), 798 (m), 855 (w), 923 (w), 986 (m), 1009 (s), 1061 (w), 1100 (s), 1204 (m), 1230 (s), 1286 (m), 1348 (s), 1442 (m), 1476 (m), 1594 (br w), 2104 (vs), 2146 (vw), 2360 (vw), 2513 (vw), 2853 (w), 2921 (w), 2956 (w), 2987 (w), 3091 (s), 3446 (br w) cm^{-1} ; **Schmelzpunkt**: 113°C.

5.3.8.2 2-(1*H*-Imidazol-1-yl)ethylmethansulfonat (**42**)

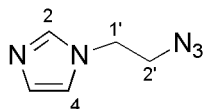


41 (1.32 g, 11.75 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem CH_2Cl_2 (7 mL) gelöst. Zu der gelben Lösung wurde NEt_3 (1.79 mL, 12.92 mmol, 1.10 eq) gegeben, dann wurde das Reaktionsgemisch auf 0 °C gekühlt und tropfenweise mit Methansulfonylchlorid (1.00 mL, 12.92 mmol, 1.10 eq) versetzt. Die entstandene Suspension wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt (DC-Kontrolle EtOAc/ CH_3OH 10:1). Nach Zugabe von CH_2Cl_2 (50 mL) wurde mit ges. wässriger $NaHCO_3$ -Lösung (100 mL) sowie H_2O (50 mL) gewaschen. Nach Trocknung über $MgSO_4$, Filtration und Entfernen des Lösemittels *in vacuo* blieb ein öliges Rückstand, der säulenchromatographisch (SiO_2 , EtOAc/ $MeOH$ 10:1) gereinigt wurde. **42** (1.19 g, 6.23 mmol, 53%) wurde als gelbes Öl isoliert.

DC [EtOAc/ CH_3OH (10:1)]: R_f = 0.70; **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.43 (s, 1H, H2), 6.95 (s, 1H, H5), 6.90 (s, 1H, H4), 4.33 (t, 3J (H2', H1') = 5.1 Hz, 2H, H2'), 4.18 (t, 3J (H1', H2') = 5.1 Hz, 2H, H1'), 2.77 (s, 3H, SO_2-CH_3); **^{13}C -NMR** (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 137.5 (C2), 129.8 (C5), 119.1 (C4), 68.3 (C2'), 45.8 (C1'), 37.2 (SO_2-CH_3); **MS** (EI $^+$): m/z (%): 54.0 (18), 81.0 (23, C_4HS), 94.0 (80, $C_3H_{10}OS$), 130.0 (7), 190.0 (100, $[M]^+$); **HRMS** (ESI $^+$): m/z (%): 191.05 (30, $[M+H]^+$; ber. für $[C_6H_{11}N_2O_3S]^+$ 191.0485, gef. 191.0487 $[M+H]^+$), 285.10 (11), 381.09 (100, $[2M+H]^+$; ber. für $[C_{12}H_{21}N_4O_6S_2]^+$ 381.0897, gef. 381.0903 $[2M+H]^+$), 477.08 (25); (ESI $^-$): m/z (%): 415.05 (32, $[2M+Cl]^-$; ber. für $[C_{12}H_{20}ClN_4O_6S_2]^-$ 415.0518, gef. 415.0527 $[2M+Cl]^-$), 475.06 (100), 571.05 (29); (EI $^+$): m/z (%): 190.04 (100, $[M]^+$; ber. für $[C_6H_{10}O_3N_2S]^+$ 190.0412, gef. 190.0412 $[M]^+$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 1021

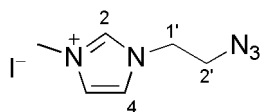
(vs), 1111 (*br w*), 1178 (*br w*), 1222 (*vw*), 1449 (*w*), 2359 (*vw*), 2832 (*m*), 2943 (*m*), 3318 (*br m*) cm^{-1} .

5.3.8.3 1-(2-Azidoethyl)-1*H*-imidazol (**43**)



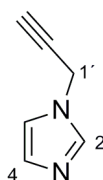
42 (0.89 g, 4.68 mmol, 1.00 eq) wurde in DMF (9 mL) gelöst. Nach Zugabe von NaN_3 (0.36 g, 5.61 mmol, 1.20 eq) zu der gelben Lösung rührte die entstandene gelbe Suspension 22 h bei Raumtemperatur. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde CH_2Cl_2 (75 mL) zugegeben und je dreimal mit H_2O (20 mL) sowie ges. wässriger NaHCO_3 Lösung (20 mL) gewaschen. Die vereinten wässrigen Phasen wurden mit CH_2Cl_2 (100 mL) rückextrahiert. Nach Trocknen über MgSO_4 , Filtration und Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der bleibende Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2 , EtOAc/MeOH 10:1) aufgereinigt. **43** (0.50 g, 3.65 mmol, 78%) konnte als oranges Öl isoliert werden.

DC [EtOAc/ CH_3OH (10:1)]: $R_f = 0.70$; **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 7.49$ (s, 1H, H2), 7.07 (br s, 1H, H5), 6.96 (s, 1H, H4), 4.06 (t, 3J (H1', H2') = 6.0 Hz, 2H, H1'), 3.59 (t, 3J (H2', H1') = 6.0 Hz, 2H, H2'); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 137.4$ (C2), 130.0 (C5), 119.1 (C4), 51.8 (C1'), 46.1 (C2'); **MS** (EI^+): m/z (%): 40.9 (14), 43.9 (18, H_2N_3), 54.1 (62, $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}$), 68.1 (12), 81.1 (100, $\text{C}_4\text{H}_5\text{N}_2$), 111.1 (35, $\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_4$), 130.0 (92, C_5H_5), 137.2 (10, $[M]^+$); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 74.81 (5), 138.08 (100, $[M+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_5\text{H}_8\text{N}_5]^+$ 138.0774, gef. 138.0764 $[M+\text{H}]^+$), 182.10 (12), 232.13 (12), 275.14 (38, $[2M+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_{10}]^+$ 275.1476, gef. 275.1441 $[2M+\text{H}]^+$); (EI^+): m/z (%): 137.0695 (10, $[M]^+$, ber. für $[\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_5]^+$ 137.0696, gef. 137.0695 $[M]^+$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 663$ (*vs*), 920 (*vw*), 1023 (*vs*), 1084 (*w*), 1108 (*w*), 1289 (*w*), 1391 (*m*), 1443 (*br w*), 1513 (*m*), 1657 (*vs*), 2105 (*s*), 2359 (*vw*), 2834 (*w*), 2944 (*w*), 3364 (*br s*) cm^{-1} .

5.3.8.4 1-(2-Azidoethyl)-1*H*-imidazoliumiodid (**38**)

43 (0.70 g, 5.10 mmol, 1.00 eq) wurde in CH₃CN (7 mL) gelöst. Die gelbe Lösung wurde bei Raumtemperatur tropfenweise mit CH₃I (3.19 mL, 51.00 mmol, 10.00 eq) versetzt und fest verschlossen für 18 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle CH₂Cl₂/MeOH 19:1). Überschüssiges CH₃I sowie Lösemittel wurden über Nacht im N₂-Strom entfernt. **38** wurde nach Trocknung am Hochvakuum als gelbes Öl erhalten (1.42 g, 5.09 mmol, quantitative Umsetzung).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.19 (s, 1H, H2), 7.80 (s, 1H, H5), 7.75 (s, 1H, H4), 4.35 (t, ³*J* (H1', H2') = 5.6 Hz, 2H, H1'), 3.86 (t, ³*J* (H2', H1') = 5.6 Hz, 2H, H2'), 3.85 (s, 3H, N-CH₃); **¹³C-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 137.4 (C2), 124.1 (C5), 122.9 (C4), 50.2 (C1'), 48.6 (C2'), 36.5 (N-CH₃); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 152.09 (38, [M]⁺; ber. für [C₆H₁₀N₅] 152.0931, gef. 152.0927 [M]⁺), 236.99 (34, C₆H₁₀N₂I), 431.09 (100, [2M+I]⁺; ber. für [C₁₂H₂₀IN₁₀]⁺ 431.0917, gef. 431.0898 [2M+I]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 126.91 (5, I⁻), 405.90 (100, [M+2I]⁻; ber. für [C₆H₁₀I₂N₅]⁻ 405.9031, gef. 405.9042 [M+2I]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 619 (vs), 646 (m), 702 (vw), 749 (w), 824 (vw), 1165 (vs), 1288 (br m), 1457 (m), 1507 (w), 1560 (vs), 1654 (s), 2100 (vs), 2360 (w), 3087 (m), 3145 (vw), 3448 (br s) cm⁻¹.

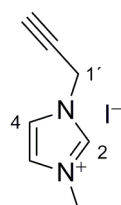
5.3.8.5 1-(Prop-2-ynyl)-1*H*-imidazol (**44**)¹³⁷

Eine Lösung von **34** (8.53 g, 0.12 mol, 1.00 eq) in THF (100 mL) wurde auf -78 °C gekühlt. Mittels Tropftrichter wurde *n*BuLi (2.5 M, 50 mL, 0.12 mol, 1.00 eq) zugegeben, wobei eine Gelbfärbung der Lösung eintrat. Das Reaktionsgemisch rührte weitere 2.5 h bei -78 °C und wurde anschliessend *via* Kanüle zu einer auf -78 °C gekühlte Lösung von Propargylbromid

(18.63g, 0.12 mol, 1.00 eq) in THF (50 mL) gegeben. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 12 h gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Zu der entstandenen braunen Suspension wurde H₂O (50 mL) gegeben und mit CH₂Cl₂ (250 mL) extrahiert. Nach Trocknung über MgSO₄ wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand durch Destillation im Hochvakuum (5 mbar, 72 °C) aufgereinigt. **44** wurde als gelbes Öl erhalten (8.49 g, 0.08 mol, 67%), das bei +4 °C gelagert wurde.

DC [EtOAc]: R_f = 0.47; **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.55 (s, 1H, H2), 7.06-7.00 (m, 2H, H4, H5), 4.70 (d, 4J (H1', H3') = 1.4 Hz, 2H, H1'), 2.49 (d, 4J (H3', H1') = 1.4 Hz, 1H, H3'); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 116.7 (C2), 129.8 (C5), 118.8 (C4), 76.5 (C2'), 74.7 (C3'), 36.3 (C1'); **MS** (EI⁺): m/z (%): 53.0 (10, C₄H₅), 68.0 (22, C₃H₄N₂), 79.0 (100, C₅H₅N), 106.1 (90, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 107.06 (59, [M+H]⁺; ber. für [C₇H₇N₂]⁺ 107.0604, gef. 107.0604 [M+H]⁺), 148.09 (68, [M+CH₃CN+H]⁺; ber. für [C₈H₁₃N₃]⁺ 148.0869, gef. 148.0869 [M+CH₃CN+H]⁺), 213.11 (100, [2M+H]⁺; ber. für [C₁₂H₁₃N₄]⁺ 213.1135, gef. 213.1134 [2M+H]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 612 (*m*), 659 (*vs*), 733 (*s*), 820 (*m*), 907 (*w*), 943 (*vw*), 1030 (*w*), 1075 (*s*), 1107 (*w*), 1229 (*s*), 1282 (*w*), 1348 (*br vw*), 1393 (*w*), 1434 (*w*), 1505 (*s*), 2928 (*vw*), 3116 (*vw*), 3287 (*w*) cm⁻¹.

5.3.8.6 1-(Prop-2-ynyl)-1*H*-imidazolium iodid (**39**)



44 (1.00 g, 9.42 mmol, 1.00 eq) wurde in CH₃CN (10 mL) gelöst. Zu der farblosen Lösung wurde CH₃I (5.9 mL, 94.36 mmol, 10.01 eq) gegeben, es konnte hierbei eine schwache Gelbfärbung beobachtet werden. Das Reaktionsgemisch rührte fest verschlossen für 17 h bei Raumtemperatur (DC Kontrolle EtOAc). Im Anschluss wurden überschüssiges CH₃I und Lösemittel über Nacht im N₂-Strom vertrieben. Es blieb ein gelbes Öl, das in der Kälte kristallisierte. **39** konnte als gelber Feststoff (2.30 g, 9.26 mmol, 99%) isoliert werden.

^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 9.20 (s, 1H, H2), 7.76-7.73 (m, 2H, H4, H5), 5.19 (d, 4J (H1', H3') = 1.8 Hz, 2H, H1'), 3.85 (s, 3H, CH3), 2.47 (d, 4J (H3', H1') = 1.8 Hz, 1H, H3'); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 137.0 (C2), 124.5 (C5), 122.6 (C4), 79.4 (C2'), 76.5 (C3'), 39.1 (CH₃), 36.6 (C1'); **MS** (EI^+): m/z (%): 42.1 (12), 54.0 (22, C₄H₆), 57.1 (9), 68.1 (6, C₃H₄N₂), 82.1 (100, C₄H₆N₂), 106.1 (4, C₇H₈N), 119.0 (5); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 94.07 (5, C₆H₈N), 121.08 (100, $[M]^+$; ber. für $[\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_2]^+$ 121.0760, gef. 121.0760 $[M]^+$), 369.06 (100, $[2M+I]^+$; ber. für $[\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{IN}_4]^+$ 369.0576, gef. 369.0571 $[2M+I]^+$); (ESI^-): m/z (%): 126.91 (100, Γ^-), 282.95 (11, $[M+\text{Cl}+I]^-$; ber. für $[\text{C}_7\text{H}_9\text{ClIN}_2]^-$ 282.9504, gef. 282.9504 $[M+\text{Cl}+I]^-$), 374.98 (100, $[M+2I]^-$; ber. für $[\text{C}_7\text{H}_9\text{I}_2\text{N}_2]^-$ 374.8861, gef. 374.8861 $[M+2I]^-$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 612 (s), 621 (s), 722 (s), 741 (m), 850 (m), 949 (w), 1016 (w), 1092 (w), 1167 (vs), 1204 (w), 1281 (w), 1323 (w), 1384 (vw), 1423 (m), 1558 (m), 1574 (w), 1619 (vw), 2125 (m), 2914 (w), 3030 (s), 3095 (m), 3184 (s) cm^{-1} ; **Schmelzpunkt**: 68 °C.

5.3.9 Komplexierungsstudien

5.3.9.1 Umsetzungen mit Verbindung 58

5.3.9.1.1 Ag^{I} - und Au^{I} - Verbindungen

Verbindung **58** wurde hinsichtlich seines Koordinationsverhaltens gegenüber Ag^+ - sowie Au^+ -Ionen untersucht. Im Falle der Ag^{I} -Verbindung wurden ^1H -NMR-, UV/Vis-, IR- sowie ESI-MS-Experimente durchgeführt. Im Falle der Au^{I} -Verbindung wurden ESI-MS-Experimente durchgeführt.

Für Titrationsen von **58** (L) mit Ag^+ -Ionen in Wasser sowie gepuffertem wässrigen Medium wurden frisch hergestellte und dunkel gelagerte AgNO_3 -Lösungen ($c = 0.01 \text{ M}$) bei 20 °C in Schritten von 0.1 eq zu Lösungen von **58** (1 mL, 0.1 mM) pipettiert. Für ^1H -NMR-Experimente wurde **58** (7.5 mg, 0.34 μmol , 1.00 eq) in D_2O gelöst, so dass eine Konzentration von 0.1 M erhalten wurde. Zu der Lösung wurde eine AgNO_3 -Lösung (1 M, 0.17 μmol , 0.50 eq) in Schritten von 0.10 eq bis 0.50 eq gegeben. Messungen von ^1H -NMR-Spektren erfolgten jeweils unmittelbar nach Zugabe.

Zur Synthese der Ag^I-Verbindung [AgL₂]⁺ **73** wurde unter Lichtausschluss eine AgNO₃-Lösung (0.1 m, 61 µL, 6.10 nmol, 1.0 eq) zu **58** (2.7 mg, 12.2 nmol, 2.0 eq) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abzentrifugiert und mehrmals mit EtOH und Ether gewaschen. Komplexverbindung **73** wurde nach Trocknung am Hochvakuum als brauner Feststoff erhalten.

¹H-NMR (200 MHz, D₂O): δ = 4.20-4.08 (m, 3H, H3, H5), 3.96-3.90 (m, 1H, H1'_a), 3.55-3.51 (m, 1H, H1'_b), 2.54 (s, 3H, SCH₃), 2.34-2.19 (m, 3H, H2_b, H1, H4), 1.54-1.50 (m, 1H, H2_a); **¹³C-NMR** (75 MHz, D₂O): δ = 194.8 (CS), 72.7 (C3), 62.9 (C1'), 54.1 (C3), 47.7 (C1), 41.1, 40.3 (C4, C2), 34.6 (C5), 27.6 (SCH₃); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 549.01 (100, [M]⁺; ber. für [C₁₆H₃₀O₄N₂AgS₄]⁺ 549.0134, gef. 549.0135 [M]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 283.04 (100, [2L+(NO₃)₂]²⁻; ber. für [C₁₆H₃₀N₄O₁₀S₄]²⁻ 283.0428, gef. 283.0426 [2L+(NO₃)₂]²⁻); **IR** (KBr): $\tilde{\nu}$ = 547 (vw), 652 (vw), 759 (w), 822 (w), 882 (vw), 956 (m), 1036 (s), 1279 (vs), 1384 (s), 1533 (s), 1627 (m), 2120 (br w), 2919 (m), 3199 (br s) cm⁻¹.

Zur Synthese der Au^I-Verbindung [AuL₂]⁺ **79** wurde HAuCl₄·4H₂O (30%, 0.25 mL) in Aceton (5 mL) gelöst. Die gelbe Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und mit einer auf 0 °C gekühlten Lösung von Bis-(2-hydroxyethyl)sulfid (75 µL) in Aceton (5 mL) versetzt und für 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden 0.5 mL von der Lösung (0.09 mmol, 1.00 eq) zu **58** (4.00 mg, 0.18 mmol, 2.00 eq) gegeben, wobei zunächst eine Orangefärbung beobachtet wurde, die innerhalb von 5 min wieder nach Gelb umschlug. Das Reaktionsgemisch wurde ohne weitere Reinigung für ESI-MS-Messungen eingesetzt. Im Anschluß wurde die gelbe Lösung bei -20 °C gelagert. Nach mehreren Tagen hatten sich farblose, nadelförmige Kristalle abgeschieden. Eine Röntgenstrukturanalyse ergab, dass es sich hierbei jedoch nicht um eine Komplexverbindung, sondern um Bis-(2-hydroxy-ethyl)sulfoxid handelte.

HRMS (ESI⁺): *m/z* (%): 268.05 (100, C₉H₁₈O₂NS₃), 270.04 (14, C₁₄H₁₀O₂N₂S), 441.10 (33), 473.07 (43), 633.14 (44, C₁₆H₃₈O₄NAuS₄), 635.10 (66), 639.07 (33, [M]⁺; ber. für [C₁₆H₃₀N₄O₂AuS₄]⁺ 639.0748, gef. 639.0751 [M]⁺).

5.3.9.1.2 Pd^{II}- und Au^{III}- Verbindungen

Titrationen von **58** mit Au³⁺-Ionen und Pd²⁺-Ionen in Wasser sowie gepuffertem wässrigen Medium erfolgten unter den gleichen Bedingungen wie die Titrationen mit Ag⁺-Ionen. Dazu wurden K[AuCl₄]- und K₂[PdCl₄]-Lösungen (0.01 M) bei 20 °C in Schritten von 0.1 eq zu Lösungen von **58** (1 mL, 0.1 mM) pipettiert. Für ¹H-NMR-Experimente wurde **58** in D₂O gelöst, so dass eine Konzentration von 0.1 M erhalten wurde (für Versuche mit Au³⁺: 7.3 mg, 32.98 nmol, 1.00 eq und für Versuche mit Pd²⁺: 7.8 mg, 35.24 nmol, 1.00 eq). Zu der Lösung wurden die jeweiligen Au³⁺- und Pd²⁺-Lösungen (1 M, 0.50 eq) in Schritten von 0.1 eq bis 0.5 eq gegeben. ¹H-NMR-Messungen wurden ebenfalls unmittelbar nach Zugabe durchgeführt.

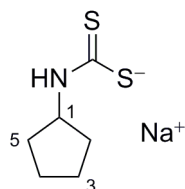
Zur Synthese der Au^{III}-Verbindung **78** wurde eine Lösung von K[AuCl₄] (0.1 M, 119.8 µL, 11.98 nmol, 1.00 eq) zu **58** (5.3 mg, 23.95 nmol, 2.00 eq) gegeben. Es konnte eine sofortige Trübung und ein Farbumschlag von gelb über orange nach braun beobachtet werden. Das Präzipitat wurde zentrifugiert, der verbleibende dunkelbraune Feststoff mit Ether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 4.18-3.92 (m, 4H, H₃, H₅, H1'_a), 3.57-3.40 (m, 1H, H1'_b), 2.34-2.26 (m, 3H, H_{2b}, H₁, H₄), 1.54-1.46 (m, 1H, H_{2a}); **¹³C-NMR** (75 MHz, D₂O): δ = 182.3 (CS), 72.7 (C₃), 62.9 (C1'), 54.0 (C₃), 48.1 (C1), 41.0, 39.9 (C₄, C₂), 34.5 (C₅); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 361.13 (100), 453.23 (90), 609.03 (12, [M]⁺; ber. für [C₁₄H₂₄AuN₂O₄S₄]⁺ 609.0284, gef. 609.0280 [M]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 958 (*br w*), 1019 (*w*), 1189 (*w*), 1303 (*br vw*), 1345 (*br w*), 1436 (*w*), 1539 (*m*), 1652 (*br w*), 2110 (*br m*), 2923 (*w*), 3315 (*br s*) cm⁻¹; (KBr): $\tilde{\nu}$ = 449 (*vw*), 653 (*vw*), 720 (*vw*), 959 (*m*), 1015 (*m*), 1211 (*br m*), 1342 (*br w*), 1439 (*w*), 1473 (*w*), 1527 (*s*), 1643 (*vw*), 2103 (*br m*), 2850 (*vs*), 2918 (*vs*), 3201 (*br m*) cm⁻¹.

5.3.9.2 Umsetzungen mit Verbindung 77

5.3.9.2.1 Pd^{II}-, Au^{III}- und Rh^{III}- Verbindungen

Synthese des Liganden: Natrium cyclopentylcarbamdithioat (**77**)



Cyclopentylamin (1.72 g, 0.02 mol, 1.00 eq) wurde unter Argon-Atmosphäre mit entgastem H₂O (10 mL) versetzt. Zu der gelben Lösung wurde CS₂ (1.54 g, 0.02 mol, 1.00 eq) gegeben, wobei unmittelbar nach Zugabe ein brauner Niederschlag ausfiel. Das Reaktionsgemisch wurde mit einer Lösung von NaOH (1.60 g, 0.04 mol, 2.00 eq) in H₂O (10 mL) versetzt und 45 min bei 70 °C gerührt. Die entstandene orange Lösung wurde *in vacuo* eingeeengt. **77** wurde nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton und Fällung mit Ether als schwach rosa Feststoff erhalten (1.04 g, 5.60 mmol, 28%).

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ = 4.39 (m, 1H, H1), 1.91-1.82 (m, 2H, H2, H5), 1.60-1.55 (m, 2H, H3, H4), 1.50-1.35 (m, 4H, H2, H5, H3, H4); **¹³C-NMR** (75 MHz, D₂O): δ = 208.7 (CS), 59.6 (C1), 31.5 (C2, C5), 23.5 (C3, C4); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 41.1 (100), 58.1 (9, C₃H₈N), 69.2 (92, C₅H₉), 70.1 (7, C₄H₈N), 85.1 (7, C₅H₁₁N), 127.1 (85, C₆H₉NS); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 660 (*m*), 962 (*s*), 1017 (*w*), 1088 (*brw*), 1188 (*w*), 1330 (*s*), 1480 (*s*), 1617 (*w*), 2866 (*m*), 2954 (*s*), 3211 (*s*), 3299 (*s*) cm⁻¹; (PE): $\tilde{\nu}$ = 149 (*br m*), 280 (*br w*), 558 (*br m*), 630 (*brw*) cm⁻¹.

Der Ligand **77** (L) wurde zur Synthese zweier Komplexverbindungen vom Typ [ML₂]^{x+} (M = Pd²⁺ (**76**), x = 0; M = Au³⁺ (**75**), x = 1) sowie einer Komplexverbindung vom Typ [ML₃] (M = Rh³⁺ (**112**), ohne Abb.)) eingesetzt.

Zur Synthese der Rh^{III}-Verbindung **112** ([RhL₃]) wurde eine Lösung von RhCl₃ (30 mg, 0.14 mmol, 1.00 eq) in H₂O (2 mL) zu einer Lösung von **78** (78 mg, 0.42 mmol, 3.00 eq) in H₂O (2

mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 18 h bei 40 °C gerührt, wobei sich **112** als oranger Feststoff absetzte, der mehrmals mit H₂O gewaschen und im Hochvakuum getrocknet wurde. Zur Aufnahme eines UV/Vis-Spektrums der Verbindung wurde eine Lösung von **112** in Aceton (2.5 mM) hergestellt, die unmittelbar vor der Messung mit Aceton auf die Endkonzentration 0.25 mM verdünnt wurde (Abb. 109).

HRMS (ESI⁺): *m/z* (%): 400.04 (68, C₁₄H₂₆NS₆), 505.01 (59), 583.99 (35, [M+H]⁺; ber. für [C₁₈H₃₁N₃RhS₆]⁺ 583.9892, gef. 583.9894 [M+H]⁺), 605.97 (22, [M+Na]⁺; ber. für [C₁₈H₃₀NaN₃RhS₆]⁺ 605.9711, gef. 605.9713 [M+Na]⁺), 1005.94 (100, [2M-L]⁺; ber. für [C₃₀H₅₀N₅Rh₂S₁₀]⁺ 1005.9378, gef. 1005.9377 [2M-L]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 581.97 (100, [M-H]⁻; ber. für [C₁₈H₂₉N₃RhS₆]⁻ 581.9746, gef. 581.9735 [M-H]⁻), 743.01 (68, [M+L]⁻; ber. für [C₂₄H₄₀N₄RhS₂]⁻ 743.0074, gef. 743.0062 [M-L]⁻).

Zur Synthese der Pd^{II}-Verbindung [PdL₂] **76** wurde eine Lösung von K₂[PdCl₄] (60 mg, 0.18 mmol, 1.00 eq) in H₂O (2.5 mL) zu einer Lösung von **77** (68 mg, 0.36 mmol, 2.00 eq) in H₂O (2mL) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abzentrifugiert und mehrmals mit H₂O gewaschen. Nach Trocknung im Hochvakuum wurde **76** als brauner Feststoff erhalten. Zur Messung des UV/Vis-Spektrums der Verbindung (Abb. 109) wurde eine Lösung von **76** in Aceton (2.5 mM) hergestellt, die unmittelbar vor der Messung mit Aceton auf die Endkonzentration 0.25 mM verdünnt wurde.

¹H-NMR (400 MHz, Aceton-*d*₆): δ = 4.20-4.15 (m, 1H, H1), 1.95-1.65 (m, 4H, H2, H5; H3, H4), 1.50-1.35 (m, 4H, H2, H5, H3, H4); **¹³C-NMR** (75 MHz, Aceton-*d*₆): δ = 205.4 (CS), 33.9 (C2, C5), 22.8 (C3, C4); C1 nicht detektiert; **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 349.02 (46), 428.96 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₁₂H₂₁N₂PdS₄]⁺ 428.9622, gef. 428.9621 [M+H]⁺), 450.94 (28, [M+Na]⁺; ber. für [C₁₂H₂₀N₂NaPdS₄]⁺ 448,9436, gef. 448,9440 [M+Na]⁺), 693.88 (50, [2M-L]⁺; ber. für [C₁₈H₃₀N₃Pd₂S]⁺ 691,8834, gef. 691,8834 [2M-L]⁺), 854.92 (16, [2M+H]⁺; ber. für [C₂₄H₄₁N₄Pd₂S₈]⁺ 854.9166, gef. 854.9166 [2M+H]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 299.90 (15, C₈H₆N₂PdS₂), 426.95 (100, [M-H]⁻; ber. für [C₁₂H₁₉N₂PdS₄]⁻ 426.9475, gef. 426.9467 [M-H]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 660 (*br w*), 937 (*br w*), 973 (*w*), 1070 (*w*), 1185 (*m*), 1339 (*m*), 1395 (*m*), 1446 (*w*), 1512 (*s*), 2864 (*w*), 2955 (*s*), 3235 (*s*) cm⁻¹; (PE): $\tilde{\nu}$ = 126 (*w*), 151 (*br w*), 245 (*br vw*), 336 (*vs*), 393 (*m*), 429 (*br w*), 540 (*m*), 569 (*w*), 608 (*vw*), 632 (*vw*) cm⁻¹.

Zur Synthese der Au^{III} -Verbindung $[\text{AuL}_2]^+$ **75** wurde eine Lösung von **77** (68 mg, 0.36 mmol, 2.00 eq) in H_2O (2 mL) tropfenweise mit einer Lösung von $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ (70 mg, 0.18 mmol, 1.00 eq) in H_2O (2 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abzentrifugiert, mehrmals mit H_2O gewaschen und an der Lyophille getrocknet. **75** wurde als oranger Feststoff erhalten. Zur Messung des UV/Vis-Spektrums (Abb. 109) der Verbindung wurde eine 2.5 mM Lösung in Aceton verwendet, die unmittelbar vor der Messung mit Aceton auf die Endkonzentration 0.25 mM verdünnt wurde.

^1H -NMR (400 MHz, Aceton- d_6): δ = 4.20-4.15 (m, 1H, H1), 2.10-1.95 (m, 3H, NH; H2, H5), 1.76-1.59 (m, 6H, H2, H5; H3, H4); **^{13}C -NMR** (75 MHz, Aceton- d_6): δ = 211.3 (CS), 55.0 (C1), 33.8 (C2, C5), 23.6 (C3, C4); **HRMS** (ESI $^+$): m/z (%): 279.02 (60, $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2\text{Au}$), 380.89 (100, $\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_2\text{AuS}_4$), 517.02 (100, $[\text{M}]^+$; ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{AuS}_4]^+$ 517.0169, gef. 517.0169 $[\text{M}]^+$); (ESI $^-$): m/z (%): 248.97 (10, $\text{C}_2\text{N}_2\text{Au}$), 260.91 (72, AuS_2), 382.9951 (6, $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{AuS}_2$), 515.00 (100, $[\text{M}-2\text{H}]^-$; ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{AuS}_4]^-$ 515.0018, gef. 505.0009 $[\text{M}-2\text{H}]^-$). **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 658 (w), 842 (br w), 926 (w), 1016 (br w), 1085 (br w), 1183 (vs), 1340 (m), 1381 (br w), 1440 (m), 1531 (vs), 2116 (br w), 2866 (m), 2954 (s), 3145 (br w) cm^{-1} ; (PE): $\tilde{\nu}$ = 126 (w), 162 (br w), 343 (br w), 409 (br m), 526 (br vw), 605 (br vw) cm^{-1} .

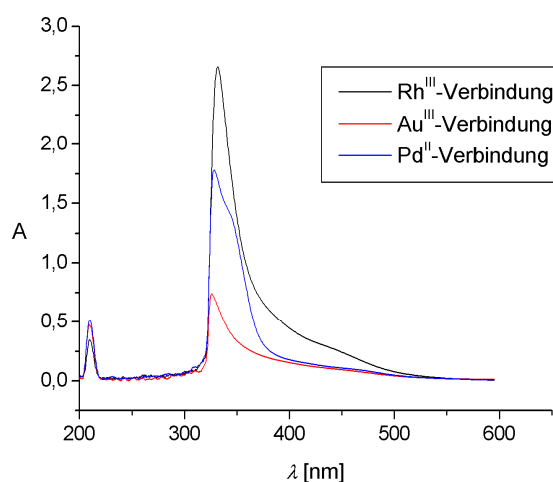


Abb. 109: UV/Vis-Spektren der Verbindungen **75**, **76** und **112** (jeweils 2.5 mM in Aceton).

5.3.9.3 Umsetzungen mit Verbindung 83

5.3.9.3.1 Pd^{II}-, Au^I- und Ag^I- Verbindungen

Der Ligand **83** (L) wurde zur Synthese zweier Komplexverbindungen vom Typ $[\text{ML}_2]^+$ ($\text{M} = \text{Ag}^+$ (**88**), Au^+ (**90**)) sowie einer Komplexverbindung vom Typ $[\text{ML}_4]^{2+}$ ($\text{M} = \text{Pd}^{2+}$ (**89**)) eingesetzt.

Zur Synthese der Pd^{II}-Verbindung $[\text{PdL}_4]^{2+}$ **89** wurde eine wässrige Lösung von $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ (0.1 M, 13.14 μL , 1.31 nmol, 1.00 eq) zu **83** (1.0 mg, 5.26 nmol, 4.00 eq) gegeben. Es entstand unmittelbar nach Zugabe eine rote Lösung, die *in vacuo* eingedunstet wurde. Der verbleibende tiefrote Rückstand wurde direkt für ESI-MS-Messungen benutzt.

HRMS (ESI⁺): m/z (%): 433.10 (61, $[\text{M}]^{2+}$; ber. für $[\text{C}_{28}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_8\text{PdS}_4]^{2+}$ 433.1064, gef. 433.1046 $[\text{M}]^{2+}$); 675.12 (100, $[\text{M-L}]^+$; ber. für $[\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{N}_6\text{O}_6\text{PdS}_3]^+$ 675.1279, gef. 675.1238 $[\text{M-L}]^+$).

Zur Synthese der Ag^I-Verbindung $[\text{AgL}_2]^+$ **88** wurde eine Lösung von AgNO_3 (0.1 M, 23.7 μL , 2.36 nmol, 0.50 eq) tropfenweise zu **83** (0.9 mg, 4.72 nmol, 1.00 eq) gegeben, wobei eine sofortige Gelbfärbung beobachtet wurde. Der entstandene Niederschlag wurde abzentrifugiert und unmittelbar für ESI-MS-Messungen verwandt.

HRMS (ESI⁺): m/z (%): 191.08 (15, $[\text{L+H}]^+$), 338.00 (6, $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}_3\text{AgS}$), 487.06 (100, $[\text{M}]^+$; ber. für $[\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_4\text{AgS}_2]^+$ 487.0597, gef. 487.0596 $[\text{M}]^+$); (ESI⁻): m/z (%): 218.08 (71), 252.07 (100, $[\text{L+NO}_3]^-$; ber. für $[\text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}]^-$ 252.0660, gef. 252.0659 $[\text{L+NO}_3]^-$).

Zur Synthese der Au^I-Verbindung $[\text{AuL}_2]^+$ **90** wurde **83** (1.5 mg, 7.88 nmol, 1.00 eq) tropfenweise mit einer wässrigen Lösung von $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ (0.1 M, 19.70 μL , 1.97 nmol, 0.25 eq) versetzt. Der dabei entstandene orange gefärbte Niederschlag wurde abzentrifugiert, mit Ether gewaschen, am Hochvakuum getrocknet und unmittelbar für ESI-MS-Messungen eingesetzt.

HRMS (ESI⁺): m/z (%): 202.01 (42), 261.03 (54), 345.16 (100), 577.12 (25, $[\text{M}]^+$; ber. für $[\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_4\text{AuS}_2]^+$ 577.1217, gef. 577.1212 $[\text{M}]^+$).

5.3.10 Synthese sonstiger Verbindungen

5.3.10.1 Alternative Synthese von **62**

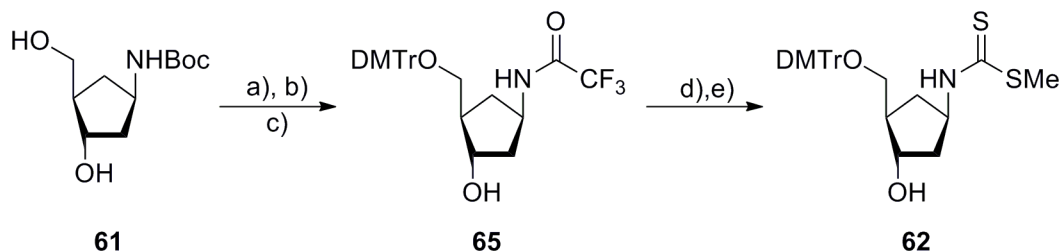
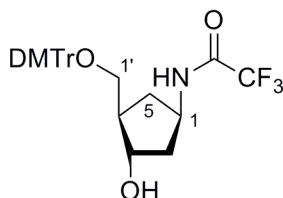


Abb. 110: Alternative Syntheseroute für Verbindung **62**; Reaktionsbedingungen: a) TFA, H₂O, RT, 30 min; b) DMF, NEt₃, TFAOEt, RT, 22 h; c) DMTrCl, Pyridin, RT, 3 h; d) 1 N NaOH, H₂O, EtOH, RT, 12 h; e) CS₂, NEt₃, EtOH, RT 90 min; dann H₂O, CH₃I, RT, 22 h.

5.3.10.1.1 *N*-((1*R*,3*R*,4*S*)-3-((bis(4-Methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-hydroxycyclopentyl)-2,2,2-trifluoroacetamid (**65**)

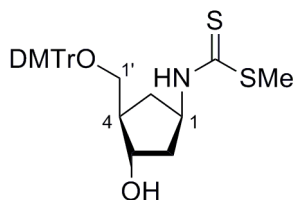


61 (158 mg, 0.68 mmol, 1.00 eq) wurde in TFA (95% in H₂O, 5 mL) gelöst und die entstandene farblose Lösung 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* und Trocknen im Hochvakuum wurde ein farbloser Feststoff erhalten, der in trockenem DMF (1.5 mL) gelöst wurde. Zu der Lösung wurde tropfenweise NEt₃ (0.47 mL, 3.40 mmol, 5.00 eq) sowie TFAOEt (0.24 mL, 2.04 mmol, 3.00 eq) gegeben. Die farblose Lösung wurde 22 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach 3 h ein Farbumschlag nach Gelb auftrat. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der verbleibende ölige Rückstand mit trockenem Pyridin (5 mL) coevaporiert und mit einer Lösung von DMTrCl (230 mg, 0.68 mmol, 1.00 eq) in trockenem Pyridin (1 mL) versetzt. Die erhaltene orange Lösung wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc) und *in vacuo* eingengt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (SiO₂, EtOAc + 0.1% Pyridin) konnte **65** als gelbes Öl

erhalten werden (150 mg, 0.28 mmol 41% über 3 Stufen). Das Verhältnis der vorliegenden Rotamere betrug 1:0.4 (bestimmt aus den Integralen der NH-Protonen).

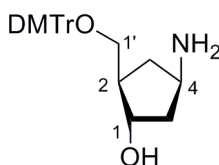
DC [EtOAc]: $R_f = 0.77$; **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3 , nur 1 Rotamer aufgeführt): $\delta = 8.60$ (br s, 1H, NH), 7.50-7.42 (m, 4H, Ar-H), 7.38-7.30 (m, 4H, Ar-H), 7.24-7.18 (m, 1H, Ar-H), 6.90-6.84 (m, 4H, Ar-H), 4.51-4.43 (m, 1H, H3), 4.19-4.10 (m, 2H, H5), 3.95-3.93 (m, 1H, H1'a), 3.79 (s, 6H, OCH_3), 3.58-3.48 (m, 1H, H1'b), 2.46-2.40 (m, 1H, H2b), 2.12-1.99 (m, 2H, H1, H4), 1.38-1.31 (m, 1H, H2a); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 158.8$ (Ar-C), 158.6, (CO), 130.4 (Ar-C), 130.0, 129.1 (Ar-C), 127.9 (Ar-C), 113.2 (CF_3), 113.0 (Ar-C), 86.6, (DMTr- $\text{C}_{\text{quart.}}$), 75.9 (C3), 65.9 (C1'), 55.2 (OCH_3), 49.9 (C1), 46.4 (C4), 39.9 (C2), 34.7 (C5); **$^{19}\text{F-NMR}$** (75 MHz, CFCl_3): $\delta = -75.9, -75.0$; **MS** (EI^+): m/z (%): 94.0 (2), 113.0 (1, $\text{C}_2\text{H}_2\text{F}_3\text{NO}$), 135.1 (34), 142.0 (12, $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{NO}_2$), 227.0 (10, $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{F}_3\text{NO}_2$), 244.9 (4), 288.1 (14, $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{F}_2$), 303.3 (100, $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{O}_2$), 529.2 (1, $[\text{M}]^+$); **HRMS** (ESI^-): m/z (%): 358.03 (48, $\text{C}_{21}\text{H}_7\text{O}_5\text{F}$), 528.20 (57, $[\text{M}-\text{H}]^-$; ber. für $[\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{O}_5\text{NF}_3]^-$; 528.2003, gef. 528.2004 $[\text{M}-\text{H}]^-$), 660.16 (100), 738.18 (54), 830.33 (10, $\text{C}_{50}\text{H}_{47}\text{F}_3\text{NO}_7$); (EI^+): m/z (%): 529.21 (1, $[\text{M}]^+$; ber. für $[\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{NO}_5]^+$ 529.2076, gef. 529.2056 $[\text{M}]^+$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu} = 681$ (vw), 702 (s), 733 (w), 820 (s), 848 (vw), 870 (w), 903 (m), 946 (w), 1007 (w), 1022 (m), 1054 (w), 1081 (vw), 1158 (s), 1172 (vs), 1238 (m), 1254 (m), 1295 (br w), 1354 (vw), 1380 (vw), 1447 (m), 1465 (vw), 1490 (vw), 1507 (m), 1553 (w), 1580 (vw), 1607 (br vw), 1697 (s), 1782 (br w), 2838 (vw), 2914 (vw), 2934 (vw), 3007 (vw), 3070 (vw), 3298 (br w), 3505 (w) cm^{-1} .

5.3.10.1.2 Methyl-3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-hydroxycyclopentylcarbamodithioat (**62**)



65 (572 mg, 1.08 mmol, 1.00 eq) wurde in einem Lösemittelgemisch aus 1 N NaOH in H₂O/EtOH (1:1, 5mL) gelöst und 12 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Das Lösemittel wurde *in vacuo* entfernt, der Rückstand in CHCl₃ (20 mL) aufgenommen und mit H₂O (30 mL) gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄, Filtration und Entfernen des Lösemittels blieb ein gelber Schaum, der in EtOH (5 mL) gelöst wurde. Die gelbe Lösung wurde mit NEt₃ (0.15 µL, 1.08 mmol, 1.00 eq) sowie CS₂ (66 µL, 1.08 mmol, 1.00 eq) versetzt und 90 min bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Anschließend wurden H₂O (1 mL) sowie CH₃I (68 µL, 1.08 mmol, 1.00 eq) zugegeben und die erhaltene gelbe Suspension weitere 20 h gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Nach Einengen *in vacuo* wurde der Rückstand in CHCl₃ (50 mL) aufgenommen, mit ges. NaCl-Lösung gewaschen (75 mL), über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, *in vacuo* eingengt und säulenchromatographisch (SiO₂, EtOAc + 1% Pyridin) gereinigt. **62** (187 mg, 0.36 mmol, 33% über 3 Stufen) konnte als gelber Schaum isoliert werden.

Analytische Daten der Zwischenstufe (1S,2R,4R)-4-amino-2-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclopentanol **66**:

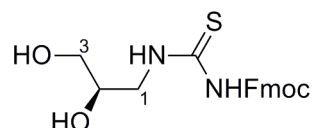


¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7.36-7.10 (m, 5H, Ar-H), 7.07-7.03 (m, 4H, Ar-H), 6.88-6.73 (m, 4H, Ar-H), 5.73 (br s, 1H, NH), 4.69-4.65 (m, 1H, H₁), 4.18 (m, 2H, H₃), 3.88-3.83 (m, 1H, H_{1'}_a), 3.71 (s, 6H, OCH₃), 3.50-3.44 (m, 1H, H_{1'}_b), 2.44-2.36 (m, 1H, H₅_b), 2.13-1.95 (m, 2H, H₄, H₂), 1.76-1.70 (m, 1H, H₅_a); **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ =

158.4 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 140.7 (Ar-C), 130.5 (Ar-C), 130.1 (Ar-C), 129.3 (Ar-C), 127.9 (Ar-C), 127.1 (Ar-C), 113.6 (Ar-C), 113.5 (Ar-C), 113.2 (Ar-C), 86.3, (DMTr-C_{quart.}), 76.4 (C1), 65.3 (C1'), 55.5 (OCH₃), 50.6 (C4), 48.8 (C4), 45.8 (C2), 41.5 (C5); **HRMS** (ESI⁻): *m/z* (%): 288.11 (4, C₂₀H₁₆O₂), 303.14 (85, C₂₁H₁₉O₂), 434.24 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₂₇H₃₂O₄N]⁺ 434.2326, gef. 434.2325 [M+H]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 468.19 (10, [M+Cl]⁻; ber. für [C₂₇H₃₁ClNO₄]⁻ 468.1947, gef. 468.1948 [M+Cl]⁻), 866.31 (100); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 668 (w), 701 (s), 726 (w), 754 (m), 790 (w), 826 (s), 1031 (vs), 1174 (s), 1246 (vs), 1298 (m), 1443 (w), 1463 (w), 1507 (s), 1606 (m), 2340 (m), 2361 (m), 2931 cm⁻¹.

5.3.10.2 Synthese von Thioharnstoff-Derivaten mit azyklischem Rückgrat

5.3.10.2.1 (*R*)-(9*H*-Fluoren-9-yl)-(2,3-dihydroxypropyl)thioharnstoff (**113**)

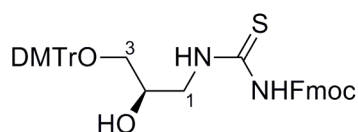


(*S*)-**81** (156 mg, 1.71 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem CH₂Cl₂ (25 mL) suspendiert und bei 0 °C mit FmocNCS (481 mg, 1.71 mmol, 1.00 eq) versetzt. Die erhaltene gelbe Suspension wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 2 h gerührt, bis ein gelber Feststoff ausfiel. Das Lösemittel wurde *in vacuo* entfernt und der verbleibende gelbe Feststoff mit H₂O gewaschen. Nach Trocknung am Hochvakuum wurde **113** (242 mg, 0.65 mmol, 38%) als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.04 (s, 1H, NH), 7.90-7.81 (m, 4H, Ar-H), 7.43-7.30 (m, 4H, Ar-H), 4.35 (d, ³*J* (NHCOOCH₂CH, NHCOOCH₂CH) = 8.0 Hz, 2H, NHCOOCH₂CH), 4.23 (t, ³*J* (NHCOOCH₂CH, NHCOOCH₂CH) = 8.0 Hz), 1H, NHCOOCH₂CH), 3.80-3.74 (m, 1H, H1_a), 3.67-3.61 (m, 1H, H2), 3.40-3.32 (d, ²*J* (H3_a, H3_b) = 10.9 Hz, 2H, H3_a, H1_b), 3.27 (d, ²*J* (H3_b, H3_a) = 10.9 Hz, 1H, H3_b); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 179.8 (CS), 129.3 (Ar-C), 128.6 (Ar-C), 128.3 (Ar-C), 128.0 (Ar-C), 127.6 (Ar-C), 126.1 (Ar-C), 125.8 (Ar-C), 120.6 (Ar-C), 69.3 (C2), 67.6 (NHCOO-CH₂CH), 64.2 (C3), 48.8 (C1), 46.5 (NHCOOCH₂CH); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 44.1 (5), 57.1 (2), 60.1 (3), 76.1 (5, C₃H₈O₂), 89.1 (5, C₃H₈NO₂), 152.1 (7, C₄H₁₂N₂O₂S), 165.1 (46), 166.2 (26), 176.1 (11), 178.1 (100, C₆H₁₄O₂N₂S), 196.2 (10, C₁₀H₁₄ONS), 372.1 (1, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%):

179.09 (4, $C_{14}H_{11}$), 373.12 (36, $[M+H]^+$; ber. für $[C_{19}H_{21}O_4N_2S]^+$ 373.1217, gef. 373.1219 $[M+H]^+$), 395.10 (100, $[M+Na]^+$; ber. für $[C_{19}H_{20}O_4N_2NaS]^+$ 395.1036, gef. 395.1037 $[M+Na]^+$), 745.24 (12, $[2M+H]^+$; ber. für $[C_{38}H_{41}N_4O_8S_2]^+$ 745.2360, gef. 745.2365 $[2M+H]^+$), 767.22 (26, $[2M+Na]^+$; ber. für $[C_{38}H_{40}N_4NaO_8S_2]^+$ 767.2180, gef. 767.2182 $[2M+Na]^+$); (ESI⁻): m/z (%): 149.04 (100), 193.03 (34), 255.23 (18), 314.03 (16), 407.08 (22, $[M+Cl]^-$; ber. für $[C_{19}H_{20}ClN_2O_4S]^-$ 407.0838, gef. 407.0833 $[M+Cl]^-$), 521.15 (16), 652.16 (10), 743.22 (38, $[2M-H]^-$; ber. für $[C_{38}H_{39}N_4O_8S_2]^-$ 743.2215, gef. 743.2200 $[2M-H]^-$), 765.20 (20, $[2M-2H+Na]^-$; ber. für $[C_{38}H_{38}N_4NaO_8S_2]^-$ 765.2034, gef. 765.2020 $[2M-2H+Na]^-$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 662 (vw), 737 (s), 758 (m), 794 (s), 865 (br w), 1018 (vs), 1081 (w), 1221 (w), 1258 (m), 1333 (br w), 1449 (m), 1527 (br w), 1687 (w), 1711 (w), 2961 (m), 3261 (br w) cm^{-1} .

5.3.10.2.2 (R)-(9H-Fluoren-9-yl)-(3-(bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-(2-hydroxypropyl)thioharnstoff (114)



Zu einer Lösung von Diol **113** (150 mg, 0.43 mmol, 1.00 eq) in trockenem Pyridin (4 mL) wurde DMTr-Cl (166 mg, 0.49 mmol, 1.15 eq) gegeben. Das orange gefärbte Reaktionsgemisch rührte 16 h bei Raumtemperatur (DC-Kontrolle CH_2Cl_2) und wurde durch Zugabe von CH_3OH (1 mL) gestoppt. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* erfolgte säulenchromatographische Aufreinigung des Produkt (SiO_2 , CH_2Cl_2 + 0.1% Pyridin). Verbindung **114** konnte als gelbes Öl isoliert werden (180 mg, 0.27 mmol, 62%).

¹H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 9.98 (s, 1H, NH), 7.35-7.15 (m, 17H, Ar-H), 6.86-6.82 (m, 4H, Ar-H), 4.47 (d, 3J (NHCOOCH₂CH, NHCOOCH₂CH) = 7.0 Hz), 2H, NHCOO-CH₂CH), 4.23 (t, 3J (NHCOOCH₂CH, NHCOOCH₂CH) = 7.0 Hz), 1H, NHCOOCH₂CH), 3.99-3.95 (m, 1H, H₂), 3.77 (s, 6H, OCH₃), 4.08 (br m, 1H, H₂), 3.99-3.95 (m, 1H, H_{1a}), 3.69-3.64 (m, 1H, H_{1b}), 3.27 (dd, 2J (H_{3a}, H_{3b}) = 10.9 Hz, 1H, H_{3a}), 3.27 (dd, 2J (H_{3b}, H_{3a}) = 9.6 Hz, 1H, H_{3b}); **¹³C-NMR** (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 179.5 (CS), 130.0 (Ar-C), 128.2 (Ar-C), 128.1 (Ar-C), 127.9 (Ar-C), 127.3, 126.9 (Ar-C), 125.3 (Ar-C), 124.9 (Ar-C), 120.2 (Ar-C), 113.2 (Ar-C),

86.5 (DMTr-C_{quart.}), 69.3 (C2), 68.2 (NHCOOCH₂CH), 65.0 (C3), 55.2 (OCH₃), 48.4 (C1), 46.6 (NHCOOCH₂CH); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 47.1 (23), 76.8 (13), 82.8 (100), 105.1 (23), 132.9 (69, C₃HO₄S), 148.7 (10), 253.6 (7, C₁₆H₁₅NO₂); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 304.14 (95, C₂₁H₂₀O₂), 697.23 (100, [M+Na]⁺; ber. für [C₄₀H₃₈O₆N₂NaS]⁺ 697.2343, gef. 697.2346 [M+Na]⁺), 1371.48 (44, [2M+Na]⁺; ber. für [C₈₀H₇₆N₄NaO₁₂S₂]⁺ 1371.4793, gef. 1371.4803 [2M+Na]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 451.17 (100, C₂₅H₂₇N₂O₄S), 494.30 (24), 709.21 (12, [M+Cl]⁻; ber. für [C₄₀H₃₈ClN₂O₆S]⁻ 709.2145, gef. 709.2134 [M+Cl]⁻); **IR**(Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 673 (vw), 689 (w), 712 (w), 749 (s), 760 (s), 817 (w), 848 (w), 868 (vw), 880 (vw), 893 (w), 924 (m), 949 (m), 988 (m), 1061 (w), 1089 (s), 1105 (w), 1147 (m), 1215 (w), 1237 (w), 1265 (vw), 1275 (vw), 1285 (vw), 1376 (br w), 1403 (br vw), 1430 (vw), 1467 (w), 1582 (vw), 1602 (m), 1692 (br s), 1724 (br vw), 1767 (m), 2770 (vw), 2858 (w), 2928 (vw), 2963 (vw), 3070 (br vw), 3370 (br vw) cm⁻¹.

5.3.10.3 Synthese der Phosphoramidite **105** und **106** für die DNA-Synthese

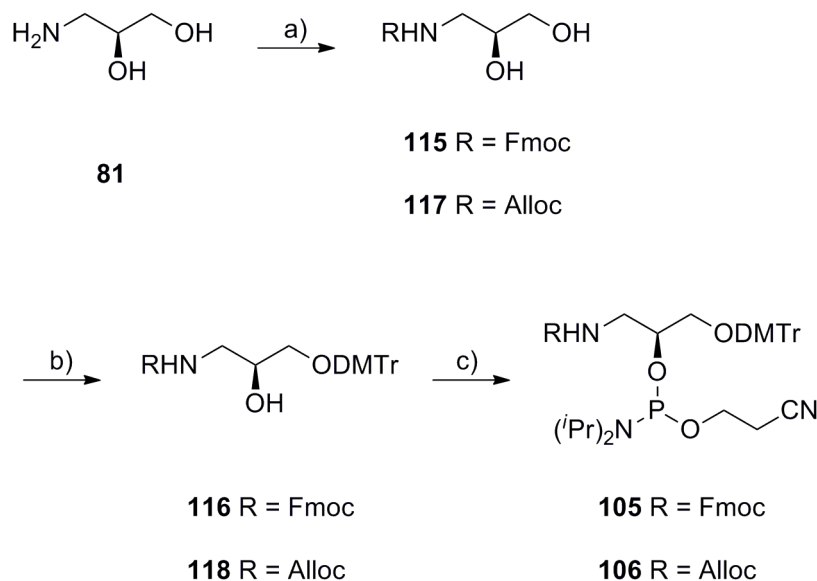
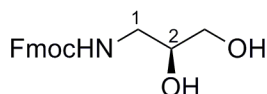


Abb. III: Syntheserouten der Phosphoramidite **105** und **106** für die Synthese aminomodifizierter DANN. Reaktionsbedingungen: a) FmocOSu, DMF, 75 min, RT für **115** und AllocCl, H₂O, NaOH, RT, 19 h für **117**; b) DMTrCl, Pyridin, RT 16 h für **116** und 19 h für **118**; c) Hünig-Basis, CEDCl, CH₂Cl₂, RT, 30 min für **105** und **106**.

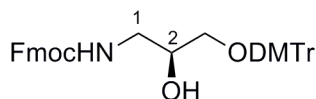
5.3.10.3.1 (S)-(9H-Fluoren-9-yl)methyl (2,3-dihydroxypropyl)carbamat (**115**)¹⁸⁹



(S)-**81** (1.36 g, 14.90 mmol, 1.00 eq) wurde in DMF (45 mL) unter leichtem erwärmen gelöst. Fmoc-OSu (5.04 g, 14.90 mmol, 1.00 eq) wurde zugegeben und die entstandene schwach gelbe Lösung 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde EtOAc (100 mL) zugegeben und mit H₂O (50 mL) sowie H₂SO₄ (2% in H₂O, 50 mL) gewaschen. Es wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingeeengt. **115** blieb als weißer Feststoff, der mit Isohexan (100 mL) gewaschen und am Hochvakuum getrocknet wurde (3.45 g, 11.03 mmol, 74%).

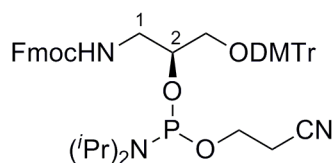
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7.90-7.85 (m, 2H, Ar-H), 7.68-7.65 (m, 2H, Ar-H), 7.42-7.28 (m, 4H, Ar-H), 4.79 (d, 3J (NHCOOCH₂CH, NHCOOCH₂CH) = 7.6 Hz), 2H, NHCOO-CH₂CH), 4.25 (t, 3J (NHCOOCH₂CH, NHCOOCH₂CH) = 7.6 Hz), 1H, NHCOOCH₂CH), 3.47 (m, 1H, H2), 3.27-3.23 (m, 2H, H3), 3.06 (m, 1H, H1), 2.92 (m, 1H, H1); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 170.1 (CO), 144.4 (Ar-C), 141.1 (Ar-C), 128.4 (Ar-C), 128.0 (Ar-C), 127.7 (Ar-C), 127.5 (Ar-C), 120.7 (Ar-C), 120.5 (Ar-C), 70.9 (C2), 65.8 (NHCOOCH₂CH), 64.2 (C3), 47.2 (NHCOOCH₂CH), 44.3 (C1); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 82.9 (7), 165.1 (28), 166.1 (17), 176.1 (7), 178.1 (100, C₁₄H₁₀), 196.1 (6); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 143.06 (20, C₆H₉O₃N), 314.14 (26, C₁₈H₂₀O₄N), 336.12 (100, [M+Na]⁺; ber. für [C₁₈H₁₉NNaO₄]⁺ 336.1206, gef. 336.1206 [M+Na]⁺), 352.09 (6, [M+K]⁺; ber. für C₁₈H₁₉O₄NK⁺ 352.0946, gef. 352.0950 [M+K]⁺), 394.08 (6, [M+2Na+Cl]⁺; ber. für [C₁₈H₁₉ClNNa₂O₄]⁺ 394.0793, gef. 394.0797 [M+2Na+Cl]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 348.10 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₁₈H₁₉ClNO₄]⁻ 348.1008, gef. 348.1027 [M+Cl]⁻), 358.13 (52, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₁₉H₂₀NO₆]⁻ 358.1296, gef. 358.1321 [M+HCOO]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 732 (*s*), 762 (*m*), 779 (*vw*), 863 (*vw*), 905 (*w*), 989 (*m*), 1045 (*w*), 1078 (*vw*), 1107 (*w*), 1152 (*br w*), 1263 (*s*), 1445 (*m*), 1466 (*vw*), 1478 (*vw*), 1543 (*m*), 1690 (*s*), 1782 (*br vw*), 2944 (*br w*), 3319 (*br m*) cm⁻¹.

5.3.10.3.2 (S)-(9H-Fluoren-9-yl)methyl (3-(bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-2-hydroxypropyl)carbamat (**116**)¹⁹⁰



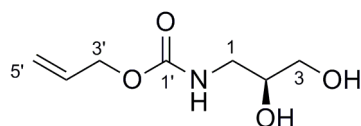
Carbamat **115** (3.80 g, 12.12 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem Pyridin (50 mL) gelöst. Zu der farblosen Lösung wurde DMTrCl (4.93 g, 14.55 mmol, 1.20 eq) innerhalb von 10 min zugegeben und die entstandene orange Lösung für 16 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von CH₃OH (2 mL) gequencht. Das Lösemittel wurde *in vacuo* entfernt und der erhaltene ölige Rückstand durch Säulenchromatographie (SiO₂, CH₂Cl₂/CH₃OH 50:1 + 0.1% Pyridin) gereinigt. **116** wurde als schwach gelber Schaum erhalten (5.79 g, 9.33 mmol, 77%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.41-6.80 (m, 13H, Ar-H), 4.36 (d, ³J (O-CH₂CH, O-CH₂CH) = 7.0 Hz, 2H, O-CH₂CH), 4.18 (t, ³J (O-CH₂CH, O-CH₂CH) = 7.0 Hz, 1H, O-CH₂CH), 3.87 (m, 1H, H₂), 3.74 (s, 6H, OCH₃), 3.44-3.39 (m, 1H, H₁), 3.21-3.14 (2m, 2H, H₃), 3.16 (m, 1H, H₁); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 158.6 (Ar-C), 156.9 (CO), 147.3 (Ar-C), 143.6 (Ar-C), 132.8 (Ar-C), 130.0 (Ar-C), 129.1 (Ar-C), 128.0 (Ar-C), 127.7 (Ar-C), 127.0 (Ar-C), 117.6 (Ar-C), 113.2 (Ar-C), 86.3 (DMTr-C_{quart}), 70.2 (C₂), 66.8 (O-CH₂), 64.8 (C₃), 55.1 (OCH₃), 47.1 (O-CH₂CH), 44.0 (C₁); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 74.0 (2), 90.0 (3, C₂H₄O₃N), 136.0 (1), 153.0 (3), 178.0 (7), 195.0 (5), 202.0 (6), 215.0 (9, C₁₁H₃O₅), 228.0 (7), 229.0 (7), 245.0 (5), 259.0 (6), 273.0 (5), 288.1 (10), 303.1 (37, C₂₁H₁₉O₂), 304.1 (100, C₂₁H₂₀O₂), 393.2 (5, C₂₈H₂₅O₂); **HRMS** (ESI⁻): *m/z* (%): 650.24 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₃₉H₃₇NO₆Cl]⁻ 650.2315, gef. 650.2354 [M+Cl]⁻), 660.26 (51, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₄₀H₃₈NO₈P]⁻ 660.2603, gef. 660.2643 [M+HCOO]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 701 (vs), 734 (s), 757 (w), 782 (w), 790 (vw), 827 (m), 902 (vw), 939 (vw), 990 (vw), 1031 (s), 1069 (br w), 1114 (vw), 1153 (w), 1175 (m), 1246 (vs), 1299 (br m), 1439 (m), 1463 (vw), 1507 (s), 1580 (w), 1607 (w), 1716 (br m), 1810 (vw), 1919 (vw), 2048 (vw), 2336 (vw), 2363 (vw), 2835 (w), 2913 (w), 3002 (vw), 3036 (vw), 3061 (vw), 3214 (br vw) cm⁻¹.

5.3.10.3.3 Phosphoramidit **105**

116 (135 mg, 0.22 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem CH_2Cl_2 (2 mL) gelöst. Die schwach gelbe Lösung wurde sorgfältig entgast und mit entgaster Hünig-Base (0.17 mL, 0.99 mmol, 4.50 eq) sowie CEDCl (0.10 mL, 0.44 mmol, 2.00 eq) versetzt, wobei eine sofortige Entfärbung eintrat. Das Reaktionsgemisch rührte 30 min bei Raumtemperatur (DC-Kontrolle $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 50:1) und wurde mit CH_3OH (1 mL) gequencht. Nach Einengen *in vacuo* wurde das schwach gelbe Öl in entgastem EtOAc (2 mL) aufgenommen und mit entgastem Isohexan (6 mL) versetzt, wobei ein farbloser Niederschlag ausfiel, der mit entgastem Isohexan (5 mL) gewaschen wurde. Das Phosphoramidit **105** (97 mg, 0.12 mmol, 54%) wurde nach Trocknung am Hochvakuum als schwach gelber Feststoff erhalten.

^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.60-6.99 (m, 21H, Ar-H), 4.25-4.14 (m, 2H, O- CH_2CH), 4.13-4.06 (m, 1H, O- CH_2CH), 3.83-3.79 (m, 1H, H2), 3.55 (s, 6H, OCH_3), 3.44-3.42 (m, 1H, H1), 3.38 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$), 3.26 (m, 2H, H3), 3.19 (m, 1H, H1); 2.89-2.85 (m, 2H, $^i\text{PrCH}$), 2.48-2.42 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$), 1.02-0.93 (d, 3J ($^i\text{PrCH}_3$, $^i\text{PrCH}$) = 6.8 Hz, 6H, $^i\text{PrCH}_3$); **^{31}P -NMR** (200 MHz, CDCl_3): δ = 149.9, 149.6; **HRMS** (ESI^-): m/z (%): 767.23 (40, $\text{C}_{47}\text{H}_{41}\text{O}_6\text{ClP}$), 850.34 (100, $[\text{M}+\text{Cl}]^-$; ber. für $[\text{C}_{48}\text{H}_{54}\text{N}_3\text{O}_7\text{PCl}]^-$ 850.3393, gef. 850.3426 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$).

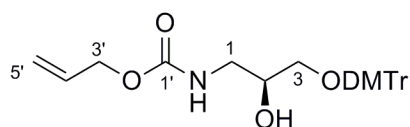
5.3.10.3.4 (*S*)-Allyl (2,3-dihydroxypropyl)carbammat (**117**)¹⁹¹

(*S*)-**81** (586 mg, 6.43 mmol, 1.00 eq) wurde in H_2O (11 mL) gelöst. Die farblose Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und tropfenweise mit Alloc-Cl (0.82 mL, 7.72 mmol, 1.20 eq) versetzt. Die entstandene weiße Suspension wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit NaOH (520 mg, 12.86 mmol, 2.00 eq) in H_2O (3.5 mL) versetzt und 19 h gerührt. Zu der farblosen

Lösung wurde EtOAc (11 mL) gegeben, anschließend wurde die Reaktionsmischung unter Eisbad-Kühlung vorsichtig mit 4 N HCl auf pH 2 angesäuert (Kontrolle mit pH Papier). Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (200 mL) und die vereinten organischen Phasen anschließend über MgSO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. **117** (666 mg, 3.80 mmol, 59%) wurde als gelbes Öl erhalten, das nicht weiter aufgereinigt werden musste.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 5.88 (m, 1H, H4'), 5.32-5.16 (m, 2H, H5'), 3.75 (m, 1H, H2), 4.54 (d, ³J (H3', H4') = 5.4 Hz, 1H, H3'), 3.59-3.54 (m, 2H, H3), 3.30-3.23 (2m, 2H, H1); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 157.5 (C1'), 132.6 (C4'), 117.9 (C5'), 71.2 (C2), 65.91 (C3'), 63.8 (C3), 43.2 (C1); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 44.0 (62), 43.0 (13), 47.0 (19), 57.0 (11), 58.0 (5), 61.0 (6), 70.1 (9), 74.0 (38), 82.9 (100, C₃H₅O₂N), 84.9 (69, C₃H₃O₂N), 87.0 (12), 100.1 (4), 114.1 (31, C₅H₈O₂N), 115.1 (C₅H₉O₂N), 144.1 (11, C₆H₁₀O₃N); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 176.09 (17, [M+H]⁺, ber. für [C₇H₁₄O₄N]⁺ 176.0917, gef. 176.0913 [M+H]⁺), 248.24 (100), 682.26 (16); (ESI⁻): *m/z* (%): 210.05 (56, [M+Cl]⁻; ber. für [C₇H₁₃NClO₄]⁻ 210.0539, gef. 210.0544 [M+Cl]⁻), 220.08 (100, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₈H₁₄NO₆]⁻ 220.0827, gef. 220.0832 [M+HCOO]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 776 (m), 858 (br vw), 927 (m), 991 (s), 1036 (s), 1111 (m), 1149 (w), 1252 (vs), 1425 (vw), 1532 (s), 1648 (vw), 1691 (vs), 2938 (m), 3324 (brm) cm⁻¹.

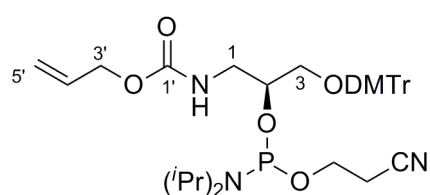
5.3.10.3.5 (S)-Allyl (3-(bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-2-hydroxypropyl)carbamate (**118**)¹⁹²



117 (0.66 g, 3.80 mmol, 1.00 eq) wurde trockenem Pyridin (2·10 mL) coevaporiert, in trockenem Pyridin (17 mL) aufgenommen und mit DMTrCl (1.49 g, 4.41 mmol, 1.16 eq) versetzt. Die orange Lösung rührte 19 h bei Raumtemperatur, wobei ein Farbumschlag nach Gelb beobachtet wurde. Es wurde CH₃OH (3 mL) zugegeben, weitere 10 min bei Raumtemperatur gerührt und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde in EtOAc (75 mL) aufgenommen, mit H₂O (100 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. **118** wurde nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie (SiO₂, CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 + 1% Pyridin) als gelber Schaum erhalten (0.92 g, 1.94 mmol, 51%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.48-6.12 (m, 13H, Ar-H), 5.88 (m, 1H, H4'), 5.29-5.18 (m, 2H, H5'), 4.52 (d, ³J (H3', H4') = 5.4 Hz, 1H, H3'), 3.84 (m, 1H, H2), 3.78 (s, 6H, OCH₃), 3.63-3.53 (m, 2H, H3), 3.42-3.14 (m, 2H, H1); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 158.6 (Ar-C), 156.9 (C1'), 132.7 (C4'), 129.9 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 127.9 (C-Ar), 117.6 (C5'), 113.1 (Ar-C), 86.2 (DMTr-C_{quart}), 70.2 (C2), 65.6 (C3'), 63.6 (C3), 55.1 (OCH₃), 44.0 (C1); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 77.0 (6), 91.9 (4), 134.9 (34), 185.0 (4), 215.0 (9), 228.0 (3), 243.1 (100, C₁₁H₁₇O₅N), 288.0 (4), 302.0 (62), 321.0 (7), 419.2 (1), 477.2 (1, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 303.14 (100, C₂₁H₁₉O₂), 500.20 (8, [M+Na]⁺; ber. für [C₂₈H₃₁NNaO₆]⁺ 500.2044, gef. 500.2040 [M+Na]⁺), 972.46 (78, [2M+NH₄]⁺; ber. für [C₅₆H₆₆N₃O₁₂]⁺ 972.4611, gef. 972.4617 [2M+NH₄]⁺), 1449.68 (12, [3M+NH₄]⁺; ber. für [C₈₄H₉₇N₄O₁₈]⁺ 1449.6792, gef. 1449.6753 [3M+NH₄]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 512.19 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₂₈H₃₁O₆NCl]⁻ 512.1845, gef. 512.1877 [M+Cl]⁻), 522.22 (17, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₂₉H₃₂NO₈]⁻ 522.2133, gef. 522.2156 [M+HCOO]⁻), 989.41 (40, [2M+Cl]⁻; ber. für [C₅₆H₆₂ClN₂O₁₂]⁻ 989.3997, gef. 989.4134 [2M+Cl]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 668 (w), 701 (m), 727 (w), 754 (m), 789 (w), 827 (s), 930 (vw), 1031 (s), 1080 (br vw), 1114 (w), 1156 (m), 1175 (s), 1245 (vs), 1413 (vw), 1445 (m), 1463 (w), 1508 (vs), 1583 (w), 1607 (m), 1648 (vw), 1699 (br m), 2836 (w), 2934 (w), 3404 (br w) cm⁻¹.

5.3.10.3.6 Phosphoramidit 106



118 (77 mg, 0.16 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem CH₂Cl₂ (1.5 mL) gelöst. Die gelbe Lösung wurde sorgfältig entgast und tropfenweise bei Raumtemperatur mit entgaster Hünig-Base (170 μ L, 0.73 mmol, 4.50 eq) sowie entgastem CEDCl (70 μ L, 0.32 mmol, 2.00 eq) versetzt, wobei eine sofortige Entfärbung eintrat. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei Raumtemperatur unter Argon-Atmosphäre (DC-Kontrolle CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1) gerührt und im Anschluß mit entgastem CH₃OH (1 mL) versetzt und weitere 15 min gerührt. Der ölige Rückstand wurde in entgastem EtOAc (1.5 mL) gelöst und mit entgastem Isohexan (5 mL) versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde verworfen und die verbleibende Lösung *in*

vacuo eingeeengt. Die Prozedur wurde zweimal wiederholt und der verbleibende Rückstand anschließend in entgastem CH₃CN (3 mL) aufgenommen und mit flüssigem Stickstoff gekühlt. Der dabei ausfallende Niederschlag wurde abgetrennt und verworfen. Die Prozedur wurde so lange wiederholt, bis kein Niederschlag mehr ausfiel. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* konnte das Phosphoramidit **106** als weißer Schaum erhalten werden (69 mg, 0.10 mmol, 63%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.46-6.83 (m, 13H, Ar-H), 5.89 (m, 1H, H4'), 5.28-5.13 (m, 2H, H5'), 4.47 (m, 2H, H3'), 4.34-4.01 (m, 1H, H2), 3.78 (s, 6H, OCH₃), 3.72 (m, 2H, OCH₂CH₂CN), 3.63-3.55 (m, 2H, H3), 3.36 (m, 2H, H1), 3.08 (m, 2H, ⁱPrCH), 2.70-2.60 (m, 2H, OCH₂CH₂CN), 1.18 und 1.16 (d, ³J (ⁱPrCH₃, ⁱPrCH) = 5.7 Hz, 6H, ⁱPrCH₃); **³¹P-NMR** (200 MHz, CDCl₃): δ = 148.8, 148.5; **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 295.29 (54, C₁₉H₃₇ON), 678.33 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₃₇H₄₉O₇N₃P]⁺ 678.3303, gef. 678.3287 [M+H]⁺), 1355.65 (21, [2M+H]⁺; ber. für [C₇₄H₉₇N₆O₁₄P₂]⁺ 1355.6460, gef. 1355.6488 [2M+H]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 712.29 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₃₇H₄₈N₃O₇PCl]⁻ 712.2924, gef. 712.2950 [M+Cl]⁻), 722.32 (96, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₃₈H₄₉N₃O₉P]⁻ 722.3212, gef. 722.3232 [M+HCOO]⁻).

5.3.11 Synthese eines Aktivesters für die postsynthetische Modifizierung von Amino-DNA¹³⁹

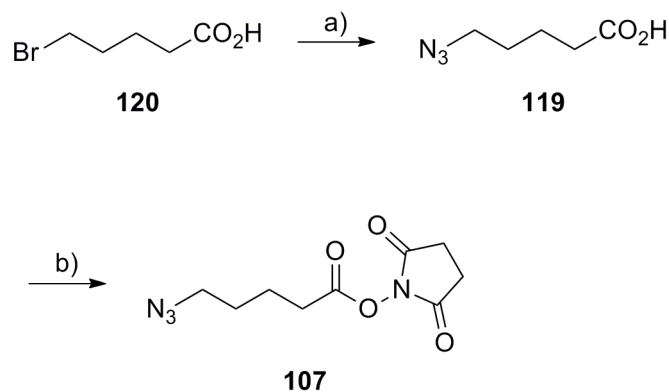
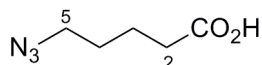


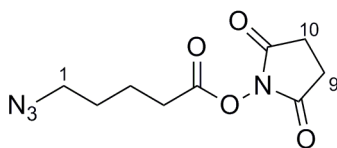
Abb. 112: Syntheseweg des Aktivesters **107** für die postsynthetische Modifizierung von Oligonukleotiden. Reaktionsbedingungen: a)

5-Azidopentansäure (**119**)



5-Bromopentansäure **120** (1.00 g, 5.52 mmol, 1.00 eq) wurde mit einer Stock-Lösung von NaN_3 in DMSO (0.5 M, 12.5 mL, 6.07 mmol, 1.10 eq) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde H_2O (20 mL) zugegeben, mit EtOAc (100 mL) extrahiert, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. Nach Trocknung am Hochvakuum wurde **119** als gelbes Öl erhalten (0.66 g, 4.58 mmol, 83%) und unmittelbar weiter umgesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.21 (t, 3J (H5, H4) = 6.6 Hz, 2H, H5), 2.24 (t, 3J (H2, H3) = 7.1 Hz, 2H, H2), 1.64-1.55 (m, 4H, H3, H4); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl_3): δ = 175.5 (C1), 51.1 (C5), 33.4 (C2), 28.2 (C4), 22.0 (C3); **MS** (EI^+): m/z (%): 45.0 (10), 47.0 (15), 49.0 (6), 69.0 (19), 78.0 (28), 83.0 (100), 85.0 (64), 115.1 (1, $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$), 124.1 (3); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 668 (br w), 701 (w), 818 (vw), 898 (vw), 951 (m), 1016 (br vs), 1163 (vw), 1252 (br vw), 1312 (br w), 1346 (w), 1406 (w), 1436 (w), 1715 (br m), 2097 (s), 2339 (vw), 2361 (vw), 2917 (vw), 3001 (vw), 3425 (br w) cm^{-1} .

2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl 5-azidopentanoat (107)

5-Azidopentansäure **119** (268 mg, 1.87 mmol, 1.00 eq) und *N*-Hydroxysuccinimid (226 mg, 1.96 mmol, 1.05 eq) wurden in CH₂Cl₂ (15 mL) suspendiert. EDC·HCl (377 mg, 1.96 mmol, 1.05 eq) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von H₂O (15 mL) wurde die organische Phase separiert und mit H₂O sowie ges. NaCl-Lösung (je 25 mL) gewaschen. Nach Trocknung über MgSO₄, Filtration und Einengen *in vacuo* wurde **107** (369 mg, 1.53 mmol, 82%) als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.33 (t, 3J (H4, H3) = 6.5 Hz, 2H, H4), 2.82 (s, 4H, H9, H10), 2.65 (t, 3J , H1, H2) = 7.1 Hz, 2H, H1), 1.89-1.67 (m, 4H, H2, H3); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 169.1 (C8, C11), 168.2 (C5), 50.8 (C1), 30.4 (C4), 27.9 (C2), 25.6 (C9, C10), 21.8 (C3); **MS** (EI⁺): m/z (%): 41.0 (29), 47.0 (11), 55.0 (100, C₃H₅N), 69.0 (19), 82.9 (74, C₃HO₂N), 84.9 (45, C₃H₃O₂N), 116.1 (20, C₅H₁₂ON₂), 126.1 (8), 157.0 (5, C₆H₇O₄N), 185.1 (3, C₈H₁₁O₄N); **HRMS** (ESI⁺): m/z (%): 229.05 (6), 255.23 (7), 275.06 (18, [M+Cl]⁺; ber. für [C₉H₁₂O₄N₄Cl]⁺ 275.0553, gef. 275.0557 [M+Cl]⁺), 362.04 (100); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 737 (w), 813 (m), 845 (vw), 882 (vw), 994 (m), 1046 (w), 1063 (s), 1105 (vw), 1250 (vw), 1362 (br m), 1430 (w), 1456 (vw), 1730 (vs), 1782 (m), 1813 (m), 2095 (s), 2875 (vw), 2947 (br w) cm⁻¹.

5.3.12 Synthese verschiedener imidazolmodifizierter Azid-Precursor und Alkin-Precursor für die Click Chemie

5.3.12.1 Synthese von 4-(4-Bromphenyl)-1-methyl-1*H*-imidazol (**121**)¹⁹²

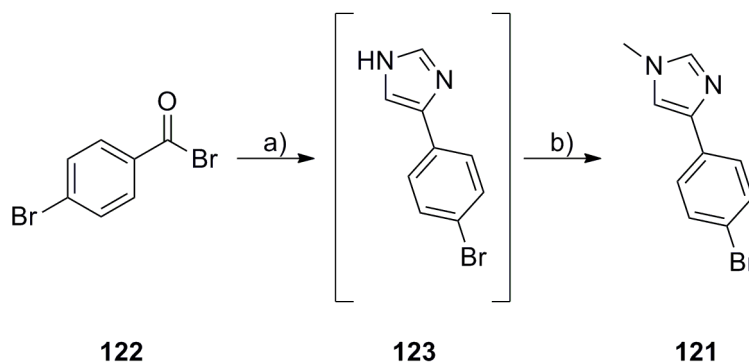
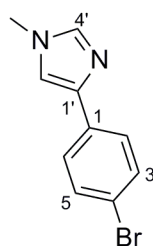


Abb. 113: Synthese von Verbindung **121**. Reaktionsbedingungen: a) Formamid, 190 °C, 2h; b) NaH, 30 min, RT, CH₃I, DMF, 17 h, RT.



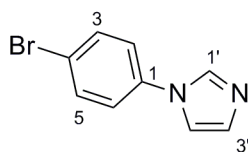
4-Brombenzoesäurebromid **122** (5.00 g, 18.95 mmol, 1.00 eq) wurde in Formamid (90 mL) gelöst und 2 h bei 190 °C gerührt. Es konnte ein Farbwechsel von gelb über orange nach braun beobachtet werden. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde H₂O (400 mL) zugegeben und die entstandene braune Suspension mit CH₂Cl₂ (400 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit H₂O sowie ges. NaCl-Lösung (je 400 mL) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingeeengt. Nach Trocknung am Hochvakuum konnte **123** (3.00 g, 13.44 mmol, 71%) als oranger Feststoff erhalten werden. Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von **123** (3.00 g, 13.44 mmol, 1.00 eq) in trockenem DMF (30 mL) wurde innerhalb von 5 min NaH (60%, 0.65 mg, 16.13 mmol, 1.20 eq) gegeben. Es bildete sich eine dunkelbraune Suspension, die auf Raumtemperatur erwärmt wurde und für weitere 30 min bei Raumtemperatur rührte. Nach Kühlung auf 0 °C wurde CH₃I (0.92 mL, 14.78 mmol, 1.10 eq) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch rührte 17 h bei Raumtemperatur (DC-Kon-

trolle EtOAc), wurde mit H₂O (4 mL) versetzt und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde in EtOAc (250 mL) aufgenommen und mit H₂O (40 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. Das Produkt **121** (1.13 g, 4.77 mmol, 35%) wurde nach Reinigung mittels Säulenchromatographie (SiO₂, CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1) als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7.67-7.64 (m, 2H, H2, H6), 7.62-7.59 (m, 3H, H3, H5, H4'), 7.50-7.47 (m, 1H, H2'); **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 139.9 (C4'), 139.1 (C2'), 134.4 (C1'), 132.1 (C1), 131.8, 130.1 (C2, C6), 126.5, 117.9 (C3, C5), 119.2 (C4), 33.5 (CH₃); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 42.1 (8), 44.1 (5), 63.0 (6), 69.0 (19), 78.5 (9), 82.9 (6), 88.0 (6), 102.0 (7), 114.0 (8), 195.9 (13, C₇H₅N₂Br), 236.0 (100, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 239.00 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₁₀H₁₀BrN₂]⁺ 239.0002, gef. 239.0002 [M+H]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 668 (w), 690 (w), 713 (vw), 764 (s), 836 (vs), 863 (m), 941 (m), 1005 (m), 1058 (m), 1067 (m), 1094 (vw), 1106 (w), 1122 (br vw), 1191 (m), 1231 (m), 1285 (w), 1312 (vw), 1354 (w), 1398 (w), 1419 (w), 1480 (m), 1504 (w), 1532 (vw), 1595 (br vw), 1668 (br w), 1716 (br w), 1919 (br vw), 3048 (vw), 3091 (m), 3132 (w) cm⁻¹.

Die Zwischenstufe **123** wurde massenspektrometrisch nachgewiesen: **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 224.98 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₉H₈BrN₂]⁺ 224.9845, gef. 224.9846 [M+H]⁺);

5.3.12.2 Synthese von 1-(4-Bromphenyl)-1*H*-imidazol (**124**)¹⁹³



34 (400 mg, 5.88 mmol, 1.00 eq), 4-Bromiodbenzol (1.66 g, 5.88 mmol, 1.00 eq), Cu₂O (42 mg, 0.29 mmol, 0.05 eq), CsCO₃ (3.83 g, 11.75 mmol, 2.00 eq) und Salox (81 mg, 0.59 mmol, 0.10 eq) wurden mit trockenem CH₃CN (5 mL) versetzt und bei 50 °C für 18 h gerührt (DC-Kontrolle EtOAc). Die entstandene orange Suspension wurde nach Abkühlen auf Raumtemperatur mit CH₂Cl₂ (5 mL) verdünnt und über Cellite filtriert. Das Lösemittel wurde *in vacuo* entfernt und der verbleibende Rückstand säulenchromatographisch (EtOAc/CH₂Cl₂) aufgereinigt. **124** konnte als roter Feststoff isoliert werden (662 mg, 2.97 mmol, 50%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 8.25 (m, 1H, H1'), 7.73 (m, 1H, H4'), 7.68 (m, 2H, H3, H5), 7.61 (m, 2H, H2, H6), 7.07 (m, 1H, H3'); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 136.6 (C1), 136.0 (C1'), 133.1 (C3, C5), 130.5 (C3'), 122.7 (C2, C6), 119.6 (C4), 118.3 (C4'); **MS** (EI^+): m/z (%): 47.0 (21), 48.0 (11), 50.0 (5), 62.9 (3), 76.1 (6), 83.0 (100, $\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_2$), 85.0 (62, $\text{C}_4\text{H}_9\text{N}_2$), 89.0 (8), 116.1 (14), 142.1 (2), 157.0 (5), 194.9 (4), 222.0 (17, $[\text{M}]^+$); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 224.98 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_9\text{H}_8\text{BrN}_2]^+$ 224.9845, gef. 224.9846 $[\text{M}+\text{H}]^+$); (ESI^-): m/z (%): 222.97 (100, $[\text{M}-\text{H}]^-$; ber. für $[\text{C}_9\text{H}_6\text{BrN}_2]^-$ 222.9699, gef. 222.9701 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 258.95 (39, $[\text{M}+\text{Cl}]^-$; ber. für $[\text{C}_9\text{H}_7\text{BrClN}_2]^-$ 258.9466, gef. 258.9469 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, 268.98 (26, $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$; ber. für $[\text{C}_{10}\text{H}_8\text{BrN}_2\text{O}_2]^-$ 266.9754, gef. 268.9761 $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 660 (s), 704 (vw), 720 (vw), 766 (s), 786 (m), 824 (vs), 874 (vw), 907 (w), 958 (m), 1011 (m), 1056 (m), 1072 (w), 1102 (w), 1180 (vw), 1240 (m), 1260 (w), 1286 (vw), 1303 (m), 1412 (vw), 1503 (vs), 1532 (br w), 1594 (w), 2361 (vw), 3108 (m) cm^{-1} .

5.3.12.3 Synthese von 1-Methyl-6-brombenzimidazol (**125**)¹⁹⁴

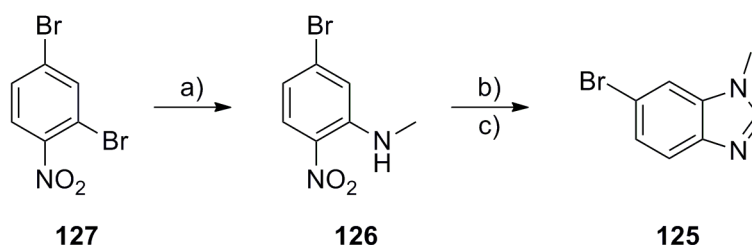
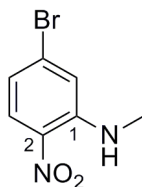
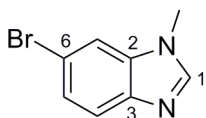


Abb. 114: Syntheseroute von **125**. Reaktionsbedingungen: a) Methylamin, EtOH, 2 h, 80 °C; b) $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2 h RF; c) Trimethylorthoformiat, Toluol, *p*-Toluolsulfonsäure, 2 h, RF.

5-Brom-N-methyl-2-nitroanilin (126)

2,4-Dibrom-1-nitrobenzol **127** (3.76 g, 13.38 mmol, 1.00 eq) wurde in Ethanol (100 mL) gelöst und mit Methyamin (40 % in H₂O, 100 mL) versetzt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach orange beobachtet wurde. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h unter Rückfluß gerührt. Während des Abkühlens fiel **126** (0.91 g, 3.94 mmol, 29%) als oranger Feststoff aus, der filtriert und am Hochvakuum getrocknet wurde

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.20 (s, 1H, NH), 7.94 (d, 3J (H3, H4) = 9.1 Hz, 1H, H3), 7.13 (d, 4J (H6, H4) = 2.1 Hz, 1H, H6), 6.79 (dd, 3J (H4, H3) = 9.1 Hz, 4J (H4, H6) = 2.1 Hz, 1H, H4), 2.91 (d, 3J (CH₃, NH) = 5.0 Hz, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 146.8 (C1), 131.4 (C2), 130.7 (C5), 128.4 (C3), 118.2 (C4), 116.9 (C6), 30.2 (CH₃); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 63.0 (6), 78.0 (13), 105.0 (80, C₆H₅N₂), 118.0 (C₈H₈N), 134.0 (4), 157.0 (38, C₅H₄NBr), 169.0 (14), 183.0 (13), 198.0 (14), 213.0 (8), 230.0 (90, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁻): *m/z* (%): 137.04 (100), 228.96 (13, [M-H]⁻; ber. für [C₇H₆BrN₂O₂]⁻ 228.9618, gef. 228.9628 [M-H]⁻), 266.94 (78, [M+Cl]⁻; ber. für [C₇H₇BrClNO₂]⁻ 266.9364, gef. 266.9372 [M+Cl]⁻); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 680 (vw), 701 (vw), 742 (vs), 792 (w), 804 (w), 843 (m), 879 (w), 944 (vw), 952 (vw), 1010 (w), 1047 (m), 1068 (m), 1086 (vw), 1168 (m), 1208 (br s), 1258 (m), 1316 (s), 1329 (vw), 1405 (w), 1427 (w), 1470 (w), 1499 (br w), 1514 (w), 1594 (vw), 1611 (vw), 1893 (vw), 2363 (vw), 2821 (vw), 3384 (br m) cm⁻¹.

1-Methyl-6-brom-benzimidazol 125

Zu einer Lösung von **126** (0.85 g, 3.68 mmol, 1.00 eq) in EtOH wurde $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1.67 g, 7.40 mmol, 2.01 eq) portionsweise gegeben und die orange Lösung für 4 h unter Rückfluß gerührt. Die entstandene braune Lösung wurde nach dem Abkühlen *in vacuo* eingengt, mit H_2O (35 mL) sowie 1 N NaOH (20 mL) versetzt und mit CH_2Cl_2 (300 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. Das als braunes Öl bleibende 6-Bromo-*N*¹-methylbenzol-1,2-diamin wurde mit Toluol (20 mL), Trimethylorthoformiat (0.5 mL, 4.62 mmol, 1.25 eq) sowie *p*-Toluolsulfonsäure (40 mg, 0.23 mmol, 0.06 eq) versetzt und 2 h unter Rückfluß gerührt. Nach Abkühlen und Entfernen des Lösemittels *in vacuo* blieb ein braunes Öl. **125** (0.38 g, 1.80 mmol, 49% über 2 Stufen) wurde nach säulenchromatographischer Aufreinigung (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1) als brauner Feststoff isoliert.

¹H-NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 8.16 (s, 1H, H1'), 7.82 (d, ⁴*J* (H7, H5) = 1.9 Hz, 1H, H7), 7.56 (d, ³*J* (H4, H5) = 8.6 Hz, 1H, H4), 7.29 (dd, ³*J* (H5, H4) = 8.6 Hz, ⁴*J* (H5, H7) = 1.9 Hz, 1H, H4), 3.79 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 146.0 (C1'), 142.8 (C3), 136.3 (C2), 124.8 (C5), 121.4 (C7), 115.1 (C6), 113.7 (C4), 31.3 (CH₃); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 44.0 (8, C₂H₆N), 88.0 (10), 130.1 (22, C₈H₆N₂), 209.0 (10, [M]⁺), 290.0 (100, C₈H₇Br₂N₂); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 210.99 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₈H₈N₂Br]⁺ 210.9865, gef. 210.9867 [M+H]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 678 (br w), 742 (m), 753 (vw), 786 (vw), 804 (vs), 842 (vw), 869 (br m), 894 (w), 938 (vw), 959 (m), 1006 (vw), 1046 (w), 1110 (vw), 1126 (vw), 1150 (w), 1190 (w), 1233 (vw), 1251 (vw), 1268 (vw), 1286 (w), 1336 (w), 1391 (m), 1403 (vw), 1420 (br w), 1449 (w), 1474 (w), 1582 (vw), 1613 (vw), 1743 (vw), 1988 (vw), 2364 (br vw), 2612 (br vw), 2790 (br w), 2919 (br vw), 3022 (vw), 3086 (vw) cm⁻¹.

5.3.12.4 Synthese von (1-Methyl-1*H*-imidazol-5-yl)methanol (**128**)¹⁹⁵

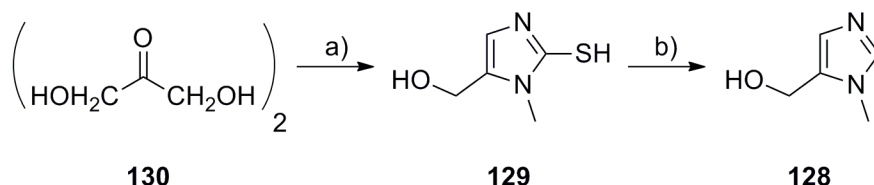
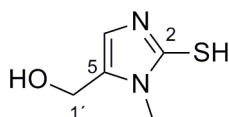


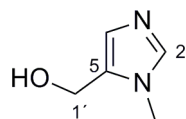
Abb. **115**: Synthese von **128**. Reaktionsbedingungen: a) $\text{NH}_2\text{CH}_3\cdot\text{HCl}$, *n*BuOH, HOAc, KSCN, 23 h, RT; b) NaNO_2 , HNO_3 , 0 °C, 45 min.

(2-Mercapto-1-methyl-1*H*-imidazol-5-yl)methanol (**129**)



Dihydroxyaceton Dimer **130** (6.40g, 0.05 mol, 1.00 eq) und Methylamin Hydrochlorid (6.20 g, 0.09 mol, 1.85 eq) wurden in *n*BuOH (50 mL) suspendiert. Nach Zugabe von Eisessig (8 mL), KSCN (10.35 g, 0.11 mol, 2.15 eq) wurde die weiße Suspension für 23 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag nach Gelb beobachtet wurde. Es folgte Zugabe von H_2O (10 mL), Filtration sowie mehrmaliges Waschen des Feststoffs mit H_2O und Ether (je 30 mL). **129** (6.71 g, 0.047 mol, 93%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 11.97 (s, 1H, SH), 6.78 (s, 1H, H4), 5.19 (t, 3J (OH, H1') = 5.1 Hz, 1H, OH), 4.30 (d, 3J (H1, OH) = 5.1 Hz, 2H, H1'), 3.42 (s, 3H, CH_3); **¹³C-NMR** (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 162.1 (C2), 130.1 (C4), 112.6 (C5), 53.4 (C1'), 31.0 (CH_3); **MS** (EI^+): m/z (%): 43.0 (8, $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$), 58.0 (6, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), 74.1 (4), 83.1 (2), 86.1 (2), 98.0 (2), 111.0 (2), 115.0 (2), 126.0 (9), 143.0 ($\text{C}_5\text{H}_7\text{ON}_2\text{S}$), 144.0 (100, $[\text{M}]^+$); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 145.04 (15, $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_5\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}]^+$ 145.0430, gef. 145.0431 $[\text{M}+\text{H}]^+$); (EI^+): m/z (%): 144.03 (100, $[\text{M}]^+$; ber. für $[\text{C}_5\text{H}_8\text{ON}_2\text{S}]^+$ 144.0352, gef. 144.0346 $[\text{M}]^+$); **IR** (Rein-substanz): $\tilde{\nu}$ = 658 (*br w*), 684 (*vw*), 748 (*m*), 806 (*s*), 865 (*br m*), 939 (*vw*), 967 (*m*), 1010 (*vs*), 1104 (*vw*), 1225 (*vw*), 1175 (*w*), 1212 (*vw*), 1256 (*m*), 1295 (*m*), 1346 (*w*), 1408 (*vw*), 1446 (*w*), 1458 (*vw*), 1481 (*br m*), 1621 (*br m*), 2064 (*vw*), 2577 (*vw*), 2729 (*vw*), 2874 (*vw*), 2929 (*w*), 3108 (*w*), 3156 (*w*) cm^{-1} .

(1-Methyl-1*H*-imidazol-5-yl)methanol (128)

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von NaNO₂ (20 mg, 0.29 mmol, xx eq) in wässriger HNO₃ (5.6 M, 5.4 mL) wurde über einen Zeitraum von 20 min **129** (1.02 g, 7.08 mmol, 1.00 eq) gegeben. Die erhaltene grüne Lösung wurde 45 min bei 0 °C gerührt, mit Na₂CO₃ auf pH 9 gebracht wurde und mit NaCl bis zur Sättigung versetzt. Es folgte Extraktion mit einem Lösemittelgemisch von *i*PrOH und CHCl₃ (1:3, 300 mL), Trocknung über MgSO₄ und Entfernen des Lösemittels *in vacuo* Verbindung **128** wurde nach Trocknung am Hochvakuum als oranger Feststoff erhalten (0.43 g, 3.80 mmol, 54%).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7.53 (s, 1H, H2), 6.76 (s, 1H, H4), 4.40 (s, 2H, H1'), 3.58 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 138.8 (C2), 132.3 (C5), 127.3 (C4), 52.9 (C1'), 31.4 (CH₃); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 43.0 (8, C₂H₅N), 58.0 (25, C₃H₆O), 68.1 (3), 83.1 (13, C₄H₇N₂), 95.1 (83, C₅H₇N₂), 111.1 (C₅H₇ON₂), 112.1 (100, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 83.06 (5, C₄H₇N₂), 113.07 (40, [M+H]⁺; ber. für [C₅H₉ON₂]⁺ 113.0709, gef. 113.0710 [M+H]⁺), 154.10 (7, [M+CH₃CN+H]⁺; ber. für [C₇H₁₂N₃O]⁺ 154.0975, gef. 154.0976 [M+CH₃CN+H]⁺), 225.13 (100 [2M+H]⁺; ber. für [C₁₀H₁₇N₄O₂]⁺ 225.1346, gef. 225.1346 [2M+H]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 665 (*m*), 732 (*br m*), 754 (*s*), 835 (*s*), 927 (*m*), 968 (*m*), 1015 (*vs*), 1070 (*br w*), 1102 (*m*), 1187 (*w*), 1210 (*m*), 1245 (*m*), 1274 (*w*), 1366 (*w*), 1420 (*w*), 1450 (*br w*), 1512 (*m*), 1565 (*vw*), 1667 (*br w*), 2870 (*br vw*), 2921 (*vw*), 3115 (*vw*), 3183 (*br w*) cm⁻¹.

5.3.12.5 Synthese von 4-Iod-1-tosyl-1H-imidazol (**131**)¹⁹⁶

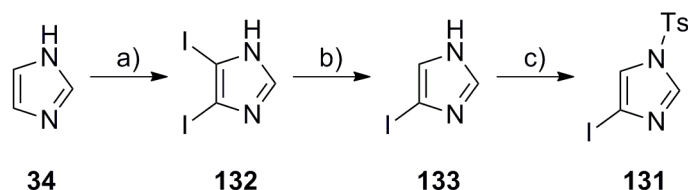
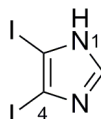


Abb. **116**: Synthese von **131**. Reaktionsbedingungen: a) NaOH, I₂, KI, H₂O, 23 h, RT; b) Na₂SO₃, *n*BuOH, H₂O, 30 h, RF; c) NEt₃, TsCl, THF, 22 h, RT.

4,5-Diiod-1H-imidazol (**132**)

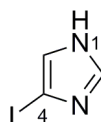


Imidazol **34** (2.50 g, 36.72 mmol, 1.00 eq) wurde in NaOH (2 N, 100 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung von I₂ (18.26 g, 71.94 mmol, 1.96 eq) und KI (29.28 g, 176.39 mmol, 4.80 eq) in H₂O (100 mL) wurde mittels Tropftrichter innerhalb von 60 min zugegeben, wobei ein weißer Niederschlag entstand und sich die Lösung zunehmend intensiver gelb färbte. Es wurde bei Raumtemperatur 22 h gerührt (DC-Kontrolle Isohexan/ EtOAc 1:1), wobei eine sehr schwache Rosafärbung beobachtet werden konnte. Nach Neutralisation mit Eisessig (10 mL, Kontrolle mit pH-Papier) entstand ein hellgelber Niederschlag, der abfiltriert und mit H₂O (50 mL) gewaschen wurde. Nach Trocknen am Hochvakuum konnte **132** (8.39 g, 26.07 mmol, 71%) als weißer Feststoff isoliert werden.

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7.75 (s, 1H, H2), 3.59 (br, s, 1H, H1); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 142.2 (C2), 141.9 (C4), 138.2 (C5); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 43.0 (26), 58.0 (8), 127.0 (50, I), 166.0 (64, C₃H₃I), 193.0 (82, C₃H₃IN₂), 319.9 (100, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 194.94 (8, C₃H₄N₂I), 235.97 (16, C₄H₇N₃I), 320.84 (36, [M+H]⁺; ber. für [C₃H₃N₂I₂]⁺ 320.8380, gef. 320.8383 [M+H]⁺), 361.86 (100, [M+CH₃CN+H]⁺; ber. für [C₅H₆I₂N₃]⁺ 361.8646, gef. 361.8646 [M+CH₃CN+H]⁺); (ESI⁻): *m/z* (%): 192.93 (1, C₃H₂N₂I), 318.82 (100, [M-H]⁻; ber. für [C₃HN₂I₂]⁻ 318.8235, gef. 318.8249 [M-H]⁻), 354.80 (35, [M+Cl]⁻; ber. für [C₃H₂ClI₂N₂]⁻ 354.8001, gef. 354.8030 [M+Cl]⁻); **IR** (Rein-

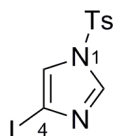
substanz): $\tilde{\nu}$ = 653 (*m*), 758 (*vw*), 817 (*s*), 918 (*br w*), 954 (*vs*), 1072 (*vw*), 1152 (*m*), 1179 (*m*), 1241 (*vw*), 1270 (*w*), 1284 (*m*), 1470 (*w*), 1547 (*vw*), 1641 (*vw*), 1806 (*br w*), 2349 (*vw*), 2580 (*br vw*), 2772 (*br vw*), 2957 (*br vw*), 3080 (*vw*) cm^{-1} .

4-Iod-1*H*-imidazol (**133**)



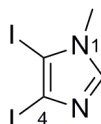
Zu **132** (8.01 g, 25.04 mmol, 1.00 eq) wurde H_2O (120 mL), *n*BuOH (60 mL) und Na_2SO_3 (12.53 g, 99.41 mmol, 3.97 eq) gegeben. Das Zweiphasengemisch wurde 30 h unter Rückfluss erhitzt (DC-Kontrolle $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 10:1). Nach Abkühlen wurde die wässrige Phase mit *n*BuOH (100 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen mit H_2O versetzt und das Lösemittelgemisch *in vacuo* entfernt. Es blieb ein hellgelber Feststoff, der mehrmals aus H_2O umkristallisiert wurde. Nach Trocknen am Hochvakuum blieb **133** (3.96 g, 20.28 mmol, 81%) als kristalliner weißer Feststoff.

^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 12.49 (*br s*, 1H, H1), 7.62 (*d*, $^4J(\text{H}2, \text{H}4)$ = 1.1 Hz, 1H, H2), 7.28 (*d*, $^4J(\text{H}2, \text{H}4)$ = 1.1 Hz, 1H, H4); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 142.1 (C2), 141.9 (C4), 138.2 (C5); **MS** (EI^+): m/z (%): 42.9 (100), 58.0 (66), 127.0 (32, I), 193.9 (62, $[\text{M}]^+$); **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 194.94 (42, $[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2\text{I}]^+$ 194.9414, gef. 194.9415 $[\text{M}+\text{H}]^+$), 235.97 (100, $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_5\text{H}_7\text{IN}_3]^+$ 235.9679, gef. 235.9679 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$); (ESI^-): m/z (%): 126.91 (1, I $^-$), 192.93 (64, $[\text{M}-\text{H}]^-$; ber. für $[\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2\text{I}]^-$ 192.9268, gef. 192.9273 $[\text{M}-\text{H}]^-$), 228.90 (100, $[\text{M}+\text{Cl}]^-$; ber. für $[\text{C}_3\text{H}_3\text{ClIN}_2]^-$ 228.9035, gef. 228.9043 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$), 238.93 (86, $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$; ber. für $[\text{C}_4\text{H}_4\text{IN}_2\text{O}_2]^-$ 238.9323, gef. 238.9332 $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$); 318.83 (92), 354.80 (46), 386.86 (76, $[\text{2M}-\text{H}]^-$; ber. für $[\text{C}_6\text{H}_5\text{I}_2\text{N}_4]^-$ 386.8609, gef. 386.8642 $[\text{2M}-\text{H}]^-$), 422.84 (39, $[\text{2M}+\text{Cl}]^-$; ber. für $[\text{C}_6\text{H}_6\text{ClI}_2\text{N}_4]^-$ 422.8376, gef. 422.8417 $[\text{2M}+\text{Cl}]^-$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 653 (*m*), 759 (*m*), 816 (*m*), 919 (*br w*), 953 (*vs*), 1071 (*w*), 1151 (*m*), 1179 (*m*), 1241 (*vw*), 1271 (*w*), 1284 (*m*), 1438 (*w*), 1453 (*w*), 1806 (*br w*), 2298 (*br vw*), 2348 (*w*), 2580 (*br w*), 2778 (*br w*), 2977 (*br vw*), 3084 (*br vw*) cm^{-1} .

4-Iod-1-tosyl-1H-imidazol (131)

133 (7.20 g, 37.08 mol, 1.00 eq) und TsCl (7.10 g, 37.08 mol, 1.00 eq) wurden in THF (150 mL) suspendiert. NEt₃ (5.15 mL, 37.08 mol, 1.00 eq) wurde zugetropft und das Reaktionsgemisch 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtration und Verdünnen des Filtrats mit CH₂Cl₂ (50 mL) wurde mit H₂O gewaschen (150 mL), über MgSO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingeeengt. **131** konnte nach mehrmaligem Umkristallisieren aus EtOH als weißer Feststoff isoliert werden (10.15 g, 28.55 mmol, 77%).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.17 (s, 1H, H2), 7.81 (s, 1H, H5), 7.50-7.46 (m, 2H, Ar-H), 7.10 (m, 2H, Ar-H), 2.27 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 145.9 (Ar-C), 143.6 (C2), 138.2 (Ar-C), 131.1 (Ar-C), 128.6 (Ar-C), 128.0 (Ar-C), 125.9 (C5), 123.8 (Ar-C), 87.3 (C4), 21.3 (CH₃); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 43.0 (10), 91.1 (100), 155.0 (100, C₁₀H₃O₂), 347.9 (100, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 194.94 (5, C₃H₄N₂I), 235.97 (10, C₄H₇IN₃), 348.95 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₁₀H₁₀O₂N₂IS]⁺ 348.9502, gef. 348.9499 [M+H]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 673 (s), 682 (s), 702 (m), 762 (m), 800 (vw), 815 (vs), 836 (m), 920 (m), 934 (vw), 959 (vw), 1016 (m), 1029 (m), 1069 (m), 1088 (w), 1120 (m), 1141 (s), 1167 (vw), 1154 (w), 1190 (vw), 1213 (w), 1275 (vw), 1295 (w), 1309 (vw), 1319 (m), 1359 (vw), 1372 (m), 1454 (w), 1492 (vw), 1574 (w), 1593 (w), 2576 (br vw), 2645 (br vw), 2848 (w), 2915 (w), 3049 (br vw), 3139 (w) cm⁻¹.

4,5-Diiod-1-methyl-1H-imidazol (134)

Eine gelbe Suspension von **133** (4.80 g, 15.00 mmol, 1.00 eq) in trockenem THF (120 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und portionsweise mit NaH (60%, 0.64 g, 16.70 mmol, 1.10 eq) versetzt. Das Reaktionsgemisch rührte 15 min bei 0 °C und wurde langsam auf Raumtem-

peratur erwärmt. Es wurde weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei eine Entfärbung beobachtet wurde. Nach Kühlen auf 0 °C erfolgte tropfenweise Zugabe von CH₃I (1.00 mL, 16.00 mmol, 1.07 eq). Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h gerührt. Die farblose Suspension wurde mit H₂O (35 mL) versetzt und mit CH₂Cl₂ (50 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen. Nach Rückextraktion der gesammelten wässrigen Phasen mit EtOAc (100 mL) wurde über MgSO₄ getrocknet, Filtriert und *in vacuo* eingeeengt. **134** konnte nach Trocknung am Hochvakuum als gelber Feststoff erhalten werden (4.99 g, 14.90 mmol, 99%).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7.85 (s, 1H, H2), 3.61 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 143.3 (C2), 96.4 (C4), 87.3 (C5), 36.6 (CH₃); **MS** (EI⁺): *m/z* (%): 42.2 (4), 47.0 (13), 52.0 (8), 53.0 (10), 79.1 (4), 83.0 (62, C₄H₇N₂), 85.0 (C₄H₉N₂), 103.3 (2), 127.2 (17), 139.3 (4), 153.2 (4), 165.1 (4), 180.0 (27, C₄H₅I), 206.9 (24), 253.3 (4), 333.8 (100, [M]⁺); **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 83.06 (1, C₄H₇N₂), 194.94 (1, C₃H₄IN₂), 208.96 (15, C₄H₆N₂I), 334.85 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₄H₅N₂I₂]⁺ 334.8537, gef. 334.8533 [M+H]⁺), 375.88 (10, [M+CH₃CN+H]⁺; ber. für [C₆H₈I₂N₃]⁺ 375.8802, gef. 375.8808 [M+CH₃CN+H]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 656 (s), 695 (m), 808 (m), 832 (w), 910 (vw), 940 (vs), 974 (br vw), 1082 (m), 1107 (vw), 1165 (m), 1086 (vw), 1235 (s), 1270 (vw), 1351 (w), 1377 (w), 1414 (w), 1438 (m), 1469 (m), 1484 (m), 1509 (vw), 1612 (vw), 2324 (vw), 2360 (vw), 2854 (m), 2922 (s), 3102 (m) cm⁻¹.

5.3.13 Synthese der H-Phosphonat-Azide **108** und **135** für die DNA-Synthese

5.3.13.1 Triethylammonium-6-Azidohexylphosphonat (**135**)

Die Synthese der Verbindung erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. M. Vrabel aus der Arbeitsgruppe Carell.

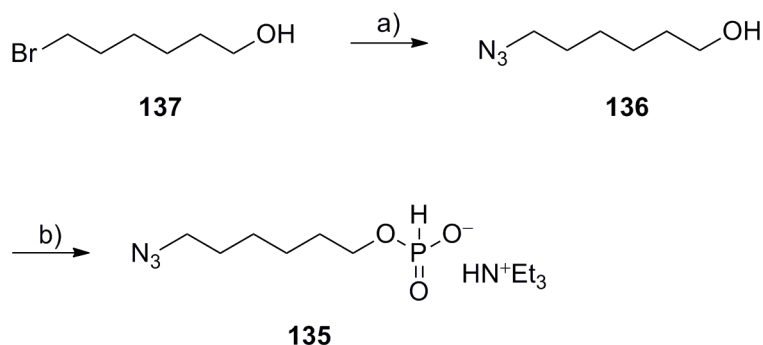
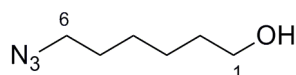


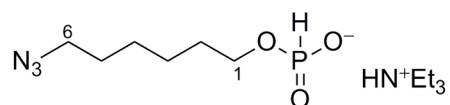
Abb. 117: Synthese des H-Phosphonats **135** für die DNA-Synthese. Reaktionsbedingungen: a) NaN_3 , DMF, 18 h, RT; b) PCl_3 , NMO, Triazol, CH_2Cl_2 , 30 min 0 °C, dann 30 min RT, TEAB, 40 min, RT.

6-Azido-hexan-1-ol (**136**)



Zu einer farblosen Lösung von 6-Bromhexan-1-ol **137** (2.77 g, 15.30 mmol, 1.00 eq) in trockenem DMF (30 mL) wurde NaN_3 (1.39 g, 21.40 mmol, 1.40 eq) gegeben. Es bildete sich eine farblose Suspension, die 18 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Nach Zugabe von Ether und H_2O (je 50 mL) wurde die organische Phase mit H_2O sowie ges. NaCl-Lösung (je 200 mL) gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden mit Ether (150 mL) rückextrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingengt. **136** (1.92 g, 13.40 mmol, 88%) wurde nach Trocknung am Hochvakuum als farbloses Öl erhalten und ohne weitere Aufreinigung weiter umgesetzt

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.59 (t, 3J (H1, H2) = 6.5 Hz, 2H, H1), 3.24 (t, 3J (H6, H5) = 6.9 Hz, 2H, H6), 1.62-1.54 (m, 4H, H2, H5), 1.40-1.34 (m, 4H, H4, H3); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): δ = 62.5 (C1), 51.3 (C6), 32.5 (C2), 28.8 (C5), 26.5 (C4), 25.3 (C3); **IR** (Rein-substanz): $\tilde{\nu}$ = 729 (w), 894 (vw), 845 (vw), 1055 (m), 1259 (br m), 1349 (w), 1456 (br w), 2090 (vs), 2861 (w), 2935 (m), 3335 (br w) cm^{-1} .

Triethylammonium-6-Azidoheptyl phosphonat (136)

PCl_3 in CH_2Cl_2 (2M, 1.62 mL, 3.25 mmol, 9.30 eq) wurde mit trockenem CH_2Cl_2 (9 mL) verdünnt und rasch mit NMO (4.22 mL, 38.39 mmol, 110 eq) sowie Triazol (771 mg, 11.17 mmol, 32 eq) versetzt. Die entstandene gelbe Suspension wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von **137** (50 mg, 0.34 mmol, 1.00 eq) in trockenem CH_2Cl_2 (4 mL) bei 0 °C tropfenweise zugegeben und für weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt, mit TEAB (1 M in H_2O , 29 mL) versetzt und weitere 40 min gerührt. Es wurde mit CH_2Cl_2 (100 mL) extrahiert, die organische Phase mit TEAB gewaschen (40 mL), über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingeeengt. Nach Trocknung am Hochvakuum konnte **136** (78 mg, 0.25 mmol, 74%) als oranger Feststoff isoliert werden. Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung für die DNA-Synthese eingesetzt.

^1H -NMR (300 MHz, CD_3CN): δ = 3.88-3.77 (m, 2H, H1), 3.42-3.26 (m, 6H, NCH_2CH_3), 1.68-1.21, m, 19H, H2, H3, H4, H5, H6, NCH_2CH_3); **^{31}P -NMR** (200 MHz, CD_3CN): δ = 3.4 und 1.1; **HRMS** (ESI^+): m/z (%): 309.20 (7, $[\text{M}+\text{NEt}_3+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_3\text{P}]^+$ 309.2050, gef. 309.2045 $[\text{M}+\text{NEt}_3+\text{H}]^+$), 410.32 (100), 434.30 (98), 510.41 (62); (ESI^-): m/z (%): 206.07 (34, $[\text{M}]^-$; ber. für $[\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3\text{P}]^-$ 206.0700, gef. 206.0710 $[\text{M}]^-$, 306.16 (100, $[\text{M}+\text{NEt}_3-\text{H}]^-$); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 681 (s), 729 (br w), 795 (vw), 865 (m), 989 (s), 1054 (s), 1113 (m), 1153 (w), 1195 (w), 1273 (m), 1371 (vw), 1401 (vw), 1460 (m), 1657 (vw), 2095 (s), 2348 (vw), 2474 (vw), 2865 (br w), 2936 (br w), 3108 (br w), 3386 (br vw) cm^{-1} .

5.3.13.2 Triethylammonium-(2*R*,3*S*,5*R*)-5-(5-(5-azidopent-1-yn-1-yl)-2,4-dioxo-3,4-dihydro-pyrimidin-1(2*H*)-yl)-2-(hydroxymethyl)-tetrahydrofuran-3-yl phosphonat (**108**)

Die Synthese der Verbindung erfolgte in Zusammenarbeit mit *Dr. M. Vrabel* aus der Arbeitsgruppe *Carell*.

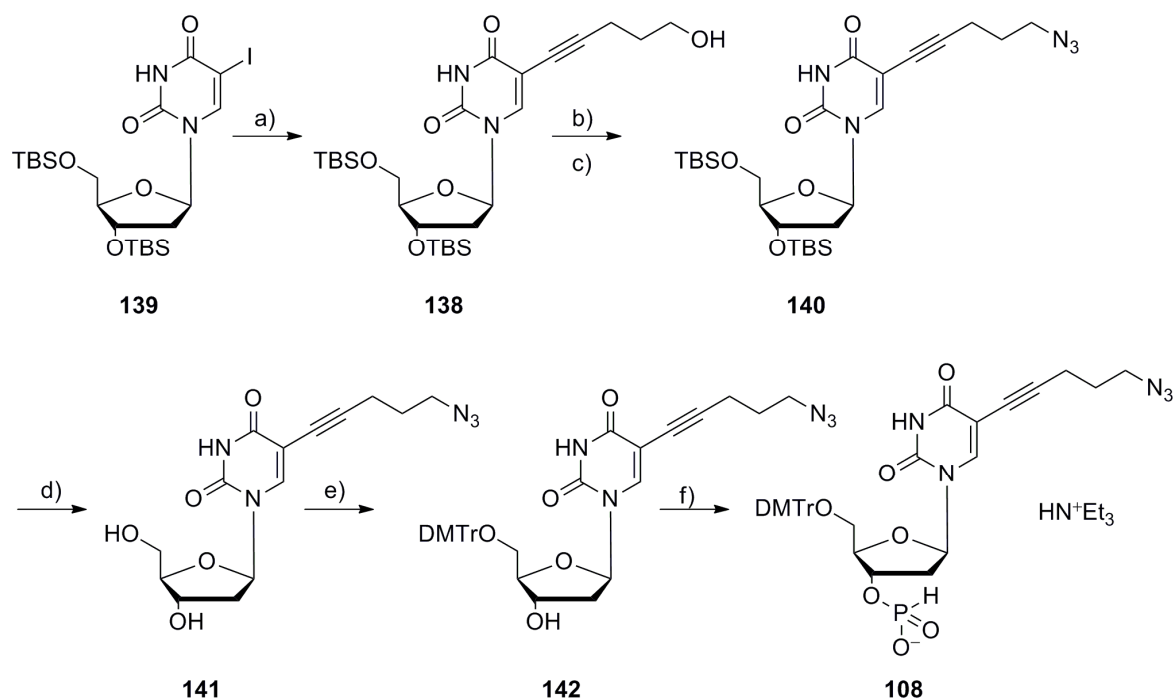
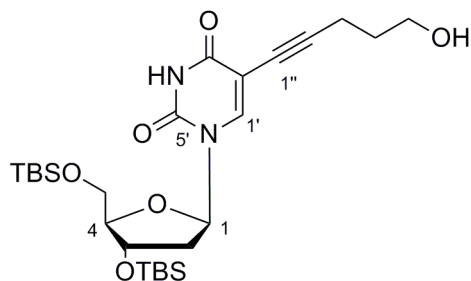


Abb. 118: Syntheseroute von des H-Phosphonats **108** für die DNA-Synthese. Reaktionsbedingungen: a) Pd(PPh₃)₂Cl₂, Hünig-Base, 4-Pentin-1-ol, CuI, DMF, 4 h, RT; b) MsCl, Hünig-Base, CH₂Cl₂, 5 h, RT; c) NaN₃, DMF, 20 h, RT; d) TBAF, THF, 3 h, RT; e) DMTrCl, Pyridin, 21 h, RT; f) PCl₃, NMO, Triazol, CH₂Cl₂, 45 min 0 °C, dann 30 min RT, TEAB, 60 min RT.

1-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-methyl)-tetrahydrofuran-2-yl)-5-(5-hydroxypent-1-yn-1-yl)pyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (138)

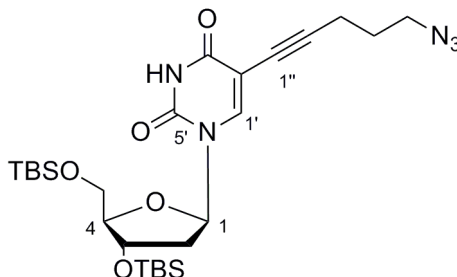


139¹³⁷ (2.33 g, 4.00 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem DMF (9 mL) gelöst. Die Lösung wurde sorgfältig entgast und mit Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0.56 g, 0.80 mmol, 0.20 eq), Hünig-Base (1.03 g, 8.00 mmol, 2.00 eq), 4-Pentin-1-ol (1.00 g, 12.00 mmol, 3.00 eq) sowie CuI (0.30 g, 1.60 mmol, 0.40 eq) versetzt. Die gelbe Suspension wurde abgedunkelt und 4 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle Isohexan/EtOAc 1:1). Die entstandene orange Suspension wurde mit Ether (50 mL) versetzt und mit ges. NaHCO₃-Lösung sowie ges. NaCl-Lösung (je 100 mL) gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden mit Ether rückextrahiert (100 mL) und die vereinten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingeeignet. Es wurde ein grünes Öl erhalten, das säulenchromatographisch (SiO₂, Isohexan/EtOAc 1:1) gereinigt wurde. **138** wurde als schwach gelber Feststoff erhalten (0.85 g, 1.58 mmol, 40%).

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: *R_f* = 0.23; **¹H-NMR** (600 MHz, CDCl₃): δ = 8.83 (s, 1H, NH), 7.91 (s, 1H, H1'), 6.27 (m, 1H, H1), 4.39 (m, 1H, H3), 3.94 (m, 1H, H4), 3.89-3.87 (m, 1H, H5), 3.78-3.74 (m, 3H, H5, H5'), 2.49 (t, ³*J* (H3'', H4'') = 6.9 Hz, 2H, H3''), 2.31-2.26 (m, 1H, H2_a), 2.03-1.98 (m, 1H, H2_b), 1.82-1.78 (m, 2H, H4''), 0.92 und 0.87 (s, 18H, (C(CH₃)₃), 0.12-0.06 (m, 12H, (Si(CH₃)₂); **¹³C-NMR** (150 MHz, CDCl₃): δ = 162.1 (C3'), 149.1 (C5'), 141.5 (C1'), 100.5 (C2'), 94.6 (C2''), 88.3 (C4), 85.6 (C1), 72.2 (C3), 71.9 (C1'), 62.9 (C5), 61.5 (C5'), 41.9 (C2), 31.0 (C4''), 26.0 (C(CH₃)₃), 25.7 (C(CH₃)₃), 16.1 (C3''), -5.7 und -5.4 (Si(CH₃)₂); **HRMS** (ESI⁻): *m/z* (%): 537.28 (100, [M-H]⁻; ber. für [C₂₆H₄₅N₂O₆Si₂]⁻ 537.2867, gef. 537.2836 [M-H]⁻), 573.26 (10, [M+Cl]⁻; ber. für [C₂₆H₄₆ClN₂O₆Si₂]⁻ 573.2588, gef. 573.2610 [M+Cl]⁻), 1075.58 (33, [2M-H]⁻; ber. für [C₅₂H₉₁N₄O₁₂Si₄]⁻ 1075.5716, gef. 1075.5790 [2M-H]⁻; (ESI⁺): *m/z* (%): 539.30 (100, [M+H]⁺; ber. für [C₂₆H₄₇O₆N₂Si₂]⁺ 539.2894, gef. 539.3001 [M+H]⁺), 561.28 (10, [M+Na]⁺; ber. für

$[\text{C}_{26}\text{H}_{46}\text{NaN}_2\text{O}_6\text{Si}_2]^+$ 561.2787, gef. 561.2778 $[M+\text{Na}]^+$, 1077.58 (54, $[2M+\text{H}]^+$; ber. für $[\text{C}_{52}\text{H}_{93}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Si}_4]^+$ 1077.5862, gef. 1077.5829 $[2M+\text{H}]^+$.

5-(5-Azidopent-1-yn-1-yl)-1-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (140)

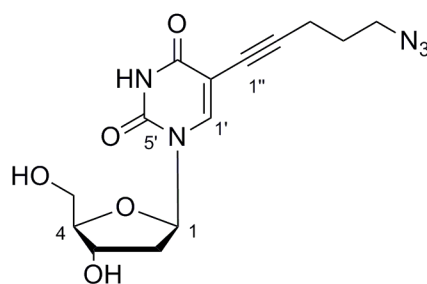


Eine gelbe Lösung von **138** (0.69 g, 1.28 mmol, 1.00 eq) in trockenem CH_2Cl_2 (18 mL) wurde mit Hünig-Base (0.35 mL, 1.93 mmol, 1.50 eq) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Nach tropfenweiser Zugabe von MsCl (0.15 mL, 1.93 mmol, 1.50 eq) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und 5 h gerührt (DC-Kontrolle Isohexan/EtOAc 1:1). Anschließend wurde ges. NaCl -Lösung (25 mL) zugegeben und mit CH_2Cl_2 (100 mL) extrahiert. Nach Trocknen über MgSO_4 , Filtration und Entfernen des Lösemittels *in vacuo* blieb ein braunes Öl, das säulenchromatographisch (SiO_2 , Isohexan/EtOAc 1:1) gereinigt wurde. Der erhaltene weiße Feststoff (0.68 g, 1.07 mmol, 1.00 eq) wurde in DMF (25 mL) gelöst und mit NaN_3 (0.35 g, 5.35 mmol, 5.00 eq) versetzt. Die entstandene gelbe Suspension wurde 20 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle Isohexan/EtOAc 1:1). Anschließend wurde EtOAc (100 mL) zugegeben und mit H_2O und ges. NaCl -Lösung (je 50 mL) gewaschen. Es wurde über MgSO_4 getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingeeengt. Das erhaltene gelbe Öl wurde mittels Säulenchromatographie (SiO_2 , Isohexan/EtOAc 3:1 → 2:1) gereinigt. **140** blieb als weißer Feststoff (0.50 g, 0.89 mmol, 83%).

DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: R_f = 0.24; **$^1\text{H-NMR}$** (600 MHz, CDCl_3): δ = 8.54 (s, 1H, NH), 7.91 (s, 1H, H1'), 6.29-6.26 (m, 1H, H1), 4.39 (m, 1H, H3), 3.95 (m, 1H, H4), 3.89-3.87 (m, 1H, H5), 3.76-3.74 (m, 3H, H5, H5'), 2.49 (t, 3J (H3'', H4') = 7.0 Hz, 2H, H3'), 2.31-2.27 (m, 1H, H2_a), 2.03-1.98 (m, 1H, H2_b), 1.84-1.81 (m, 2H, H4'), 0.92 und 0.88 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.13-0.06 (m, 12H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); **$^{13}\text{C-NMR}$** (150 MHz, CDCl_3): δ = 161.6 (C3'), 149.1 (C5'), 141.9 (C1'), 100.3 (C2'), 93.0 (C2''), 88.3 (C4), 85.7 (C1), 72.5 (C3), 72.3

(C1''), 62.9 (C5), 50.2 (C5''), 41.9 (C2), 27.7 (C4''), 26.0 (C(CH₃)₃), 25.7 (C(CH₃)₃), 16.9 (C3''), -5.7 und -5.4 (Si(CH₃)₂); **HRMS** (ESI⁻): *m/z* (%): 562.2922 (66, [M-H]⁻; ber. für [C₂₆H₄₄N₅O₅Si₂]⁻ 562.2886, gef. 562.2922 [M-H]⁻), 598.27 (62, [M+Cl]⁻; ber. für [C₂₆H₄₅ClN₅O₅Si₂]⁻ 598.2653, gef. 598.2695 [M+Cl]⁻), 608.30 (36, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₂₇H₄₆N₅O₇Si₂]⁻ 608.2941, gef. 608.2998 [M+HCOO]⁻), 1125.60 (100, [2M-H]⁻; ber. für [C₅₂H₈₉N₁₀O₁₀Si₄]⁻ 1125.5879, gef. 1125.6037 [2M-H]⁻); (ESI⁺): *m/z* (%): 564.30 (86, [M+H]⁺; ber. für [C₂₆H₄₆O₅N₅Si₂]⁺ 564.3032, gef. 564.3021 [M+H]⁺), 1144.62 (100, [2M+NH₄]⁺; ber. für [C₅₂H₉₄N₁₁O₁₀Si₄]⁺ 1144.6257, gef. 1144.6216 [2M+NH₄]⁺), 1427.27 (24).

5-(5-Azidopent-1-yn-1-yl)-1-((2R,4S,5R)-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-tetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (141)

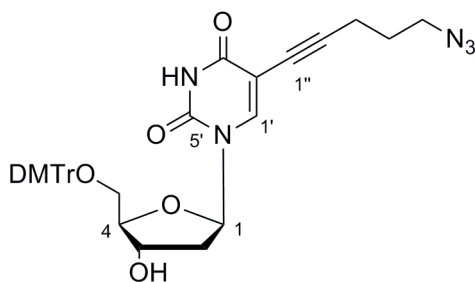


140 (0.36 g, 0.65 mmol, 1.00 eq) wurde in trockenem THF (5 mL) gelöst. Die farblose Lösung wurde entgast und auf 0 °C gekühlt. TBAF (1 M in THF, 1.45 mL, 1.45 mmol, 2.20 eq) wurde tropfenweise zugegeben, wobei ein sofortiger Farbumschlag nach Gelb beobachtet wurde. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 3 h gerührt (DC-Kontrolle (DC-Kontrolle Isohexan/EtOAc 3:1). Die Reaktion wurde mit Eisessig (1 mL) gequencht und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Das verbleibende farblose Öl wurde säulenchromatographisch (SiO₂, EtOAc/CH₃OH 10:1) gereinigt. **141** konnte als weißer Schaum erhalten werden (0.20 g, 0.64 mmol, 91%).

DC [EtOAc/CH₃OH (10:1)]: *R_f* = 0.56; **¹H-NMR** (600 MHz, CD₃OD): δ = 8.21 (s, 1H, NH), 7.87 (s, 1H, H1'), 6.22 (t, ³*J* (H1', H2) = 6.6 Hz, 1H, H1'), 4.37 (m, 1H, H3), 3.90 (m, 1H, H4), 3.89-3.69 (m, 2H, H5), 3.44 (t, ³*J* (H5'', H4'') = 6.7 Hz, 2H, H5''), 2.47 (t, ³*J* (H3'', H4'') = 7.0 Hz, 2H, H3''), 2.31-2.27 (ddd, ³*J* (H2, H1) = 6.6 Hz, ³*J* (H2, H3) = 3.7 Hz, ²*J* (H2_a, H2_b) = 13.1 Hz, 2H, H2_a, H2_b), 1.84-1.81 (p, ³*J* (H4'', H5'') = 6.7 Hz, ³*J* (H4'', H3'') = 7.0 Hz,

2H, H4''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD): δ = 163.2 (C3'), 149.8 (C5'), 143.0 (C1'), 99.5 (C2'), 92.1 (C2''), 87.7 (C4), 85.5 (C1), 72.0 (C3), 70.6 (C1'), 61.1 (C5), 49.9 (C5'), 40.2 (C2), 27.5 (C4'), 16.0 (C3'); **HRMS** (ESI^-): m/z (%): 116.06 (6, $\text{CH}_{10}\text{O}_5\text{N}$), 334.12 (100, $[M-H]^-$; ber. für $[\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_5]^-$ 334.1157, gef. 334.1187 $[M-H]^-$), 380.13 (34, $[M+\text{HCOO}]^-$; ber. für $[\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_7]^-$ 380.1212, gef. 380.1266 $[M+\text{HCOO}]^-$); (ESI^+): m/z (%): 186.22 (50), 242.14 (80, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5$), 336.13 (54, $[M+H]^+$; ber. für $[\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_5]^+$ 336.1302, gef. 336.1293 $[M+H]^+$); 358.11 (7, $[M+\text{Na}]^+$; ber. für $[\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NaO}_5\text{N}_5]^+$ 358.1122, gef. 358.1111 $[M+\text{Na}]^+$), 668.28 (100, $[2M+\text{NH}_4]^+$; ber. für $[\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_{11}\text{O}_{10}]^+$ 688.2798, gef. 688.2770 $[2M+\text{NH}_4]^+$).

5-(5-Azidopent-1-yn-1-yl)-1-((2R,4S,5R)-5-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)-methyl)-4-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (142)

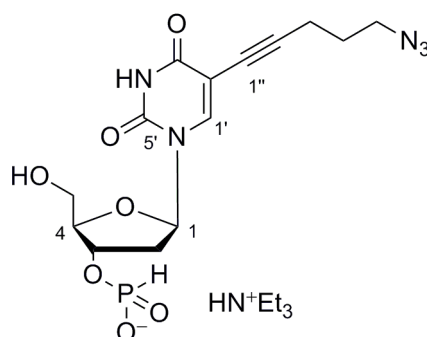


Zu einer Lösung von **141** (0.28 g, 0.84 mmol, 1.00 eq) in trockenem Pyridin (28 mL) wurde innerhalb von 5 min DMTrCl (0.34 g, 1.01 mmol, 1.20 eq) gegeben, wobei eine sofortige Gelbfärbung auftrat. Das Reaktionsgemisch wurde 21 h unter Argon-Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt und mit CH_3OH (1 mL) gequencht (DC-Kontrolle EtOAc/ CH_3OH 10:1). Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* und weitere Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (SiO_2 , EtOAc + 1% $\text{NEt}_3 \rightarrow \text{EtOAc}/\text{CH}_3\text{OH}$ 10:1 + 1% NEt_3) konnte **142** als weißer Schaum isoliert werden (0.33 g, 0.52 mmol, 62%).

DC [EtOAc (2:1)]: R_f = 0.72; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ = 8.04 (s, 1H, H'), 7.42-6.82 (m, 13H, Ar-H), 6.32 (m, 1H, H1), 4.50 (m, 1H, H3), 4.05 (m, 1H, H4), 3.78 (s, 6H, OCH_3), 3.43 (m, 1H, H5_a), 3.28 (m, 1H, H5_b), 3.08 (t, 3J (H5'', H4'') = 6.7 Hz, 2H, H5''), 2.66 (m, 2H, H2), 2.17-2.13 (m, 2H, H3'), 1.44-1.39 (m, 2H, H4''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): δ = 161.8 (C3'), 158.6 (Ar-C), 149.3 (C5'), 144.5 (Ar-C), 141.8 (C1'), 135.6 (Ar-C), 135.4 (Ar-C), 130.0 (Ar-C), 129.9 (Ar-C), 128.0 (Ar-C), 127.9 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 113.3 (Ar-C),

100.7 (C2'), 93.2 (C2''), 86.0 (DMTr-C_{quart.}), 86.4 (C4), 85.4 (C1), 72.2 (C3), 71.8 (C1'), 63.4 (C5), 55.2 (OCH₃), 50.1 (C5''), 40.9 (C2), 27.4 (C4'), 16.8 (C3'); **HRMS** (ESI⁻): *m/z* (%): 636.25 (95, [M-H]⁻; ber. für [C₃₅H₃₄N₅O₇]⁻ 636.2464, gef. 636.2495 [M-H]⁻), 672.23 (100, [M+Cl]⁻; ber. für [C₃₅H₃₅ClN₅O]⁻ 672.2230, gef. 672.2264 [M+Cl]⁻), 682.26 (61, [M+HCOO]⁻; ber. für [C₃₆H₃₆N₅O₉]⁻ 682.2519, gef. 862.2553 [M+HCOO]⁻); (ESI⁺): *m/z* (%): 303.14 (58, C₂₁H₁₉O₂), 638.26 (36 [M+H]⁺; ber. für [C₃₅H₃₆O₇N₅]⁺ 638.2609, gef. 638.2597 [M+H]⁺); 655.29 (100, [M+NH₄]⁺; ber. für [C₃₅H₃₉O₇N₆]⁺ 655.2875, gef. 655.2860 [M+NH₄]⁺), 660.24 (24, [M+Na]⁺; ber. für [C₃₅H₃₅N₅NaO₇]⁺ 660.2429, gef. 660.2414 [M+Na]⁺), 1292.54 (67, [2M+NH₄]⁺; ber. für [C₇₀H₇₄N₁₁O₁₄]⁺ 1292.5411, gef. 1292.5360 [2M+NH₄]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 701 (*m*), 726 (*w*), 753 (*w*), 791 (*vw*), 826 (*s*), 1031 (*s*), 1089 (*m*), 1174 (*s*), 1247 (*vs*), 1279 (*m*), 1458 (*m*), 1507 (*m*), 1607 (*w*), 1682 (*br vs*), 2097 (*s*), 2360 (*vw*), 2929 (*br vw*), 2839 (*vw*), 2946 (*br w*), 3393 (*br vw*) cm⁻¹.

Triethylammonium (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(5-(5-azidopent-1-yn-1-yl)-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-yl phosphonat (108**)**



PCl₃ (2 M in CH₂Cl₂, 0.36 mL, 0.71 mmol, 9.30 eq) wurde mit trockenem CH₂Cl₂ (2 mL) verdünnt und mit NMO (0.93 mL, 8.41 mmol, 110.00 eq) sowie Triazol (169 mg, 2.45 mmol, 32.00 eq) versetzt. Die gelbe Suspension wurde 45 min bei Raumtemperatur gerührt und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine auf 0 °C gekühlte Lösung von **142** (50 mg, 0.08 mmol, 1.00 eq) in trockenem CH₂Cl₂ (1 mL) tropfenweise zugegeben und das Reaktionsgemisch 30 min bei 0 °C gerührt. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und nach Zugabe von TEAB (1 M in H₂O, 6.4 mL, 6.40 mmol, 84.00 eq) weitere 60 min gerührt. Es wurde mit CH₂Cl₂ (100 mL) extrahiert, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und *in vacuo* eingedunstet. **108** (47 mg, 0.06 mmol 74%) blieb als gelbes Öl, das direkt für die DNA-Synthese eingesetzt wurde.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ = 8.06 (s, 1H, H1'), 7.43-7.19 (m, 9H, Ar-H), 6.82 (m, 4H, Ar-H), 6.37-6.31 (d, ³*J* (H1, H2) = 8.5 Hz, 1H, H1), 4.96-4.90 (m, 1H, H3), 4.27 (m, 1H, H4), 3.77 (s, 6H, OCH₃), 3.42-3.37 (m, 1H, H5_a), 3.31-3.28 (m, 1H, H5_b), 3.05 (t, ³*J* (H5'', H4') = 6.7 Hz, 2H, H5'), 3.01-2.95 (q, ³*J* (NCH₂CH₃, NCH₂CH₃) = 7.3 Hz, 6H, NCH₂CH₃), 2.70-2.64 (m, 1H, H2_a), 2.39-2.28 (m, 1H, H2_b), 2.12-2.09 (m, 2H, H3''), 1.38-1.35 (t, ³*J* (H4'', H5') = 6.7 Hz, 2H, H4'), 1.29-1.25 (t, ³*J* (NCH₂CH₃, NCH₂CH₃) = 7.3 Hz, 9H, NCH₂CH₃); **¹³C-NMR** (150 MHz, CDCl₃): δ = 161.9 (C3'), 158.5 (Ar-C), 149.3 (C5'), 142.0 (C1'), 135.5 (Ar-C), 135.4 (Ar-C), 130.0 (Ar-C), 129.3 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.9 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 113.2 (Ar-C), 100.6 (C2'), 92.9 (C2''), 86.9 (DMTr-C_{quart.}), 85.6 (C4), 85.3 (C1), 73.9 (C3), 71.7 (C1''), 63.3 (C5), 55.2 (OCH₃), 50.1 (C5''), 45.4 (NCH₂CH₃), 40.4 (C2), 27.3 (C4''), 16.7 (C3''), 8.8 (NCH₂CH₃); **³¹P-NMR** (200 MHz, CDCl₃): δ = 3.3 und 1.2; **HRMS** (ESI⁺): *m/z* (%): 700.22 (100, [M]⁺; ber. für [C₃₅H₃₅N₅O₉P]⁺ 700.2178, gef. 700.2228 [M]⁺; (ESI⁺): *m/z* (%): 303.14 (51, C₂₁H₁₉O₂), 904.47 (100, [M+2HNEt₃]⁺; ber. für [C₄₇H₆₇N₇O₉P]⁺ 904.4732, gef. 904.4701 [M+2HNEt₃]⁺); **IR** (Reinsubstanz): $\tilde{\nu}$ = 700 (*m*), 727 (*w*), 756 (*w*), 774 (*w*), 792 (*vw*), 828 (*m*), 914 (*vw*), 981 (*br s*), 1031 (*s*), 1031 (*s*), 1059 (*s*), 1176 (*m*), 1216 (*br s*), 1248 (*s*), 1280 (*w*), 1356 (*vw*), 1400 (*vw*), 1445 (*w*), 1608 (*w*), 1692 (*br w*), 2097 (*s*), 2358 (*br vw*), 2498 (*br vw*), 2608 (*br vw*), 2837 (*vw*), 2948 (*br w*), 3394 (*br vw*) cm⁻¹.

6. Liste der Abkürzungen

A Adenin, Adenosin

A Absorption

Å Ångström ($1 \text{ Å} = 10^{-10} \text{ m}$)

Ac Acetyl, Acetat

AcOH Essigsäure

a. u. Atomic units

ber. berechnet

Boc Butoxycarbonyl

br breites Signal (NMR/IR)

BTT Benzylthiotetrazol

Bz Benzoyl

C Cytidin; Cytosin

CD Circular dichroism (Zirkulardichroismus)

CEDCl Phosphorigsäure-mono-(2-cyanoethylester)-diisopropylamid-chlorid

COSY correlated spectroscopy (NMR)

CPGcontrolled pore glass

Δ Differenz

δ chemische Verschiebung (NMR)

d Tag(e); Dublett (NMR)

dA 2'-Desoxyadenosin

dC 2'-Desoxycytidin

DC Dünnschichtchromatographie, Dünnschichtchromatogramm

DCA Dichloressigsäure

ddH₂O Bidestilliertes Wasser

dest. destilliert

DIPEA Diisopropylethylamin

dG 2'-Desoyguanosin

DMAP *N,N*-4-Dimethylaminopyridin

DMF Dimethylformamid

DMSO Dimethylsulfoxid

DMTr-Cl 4,4'-Dimethoxytritylchlorid

DNA Deoxyribonucleic acid, Desoxyribonukleinsäure

dT 2'-Desoxythymidin
 DTC Dithiocarbamat
 EI Electron Impact Ionisation (Elektronenstoßionisation)
 eq Äquivalente
 ESI Electron Spray Ionisation (Elektronensprayionisation)
et al. et alii (und andere)
 Et Ethyl
 EtOAc Ethylacetat
 FAB Fast atom bombardment
 FT FourierTransform
 gef. gefunden
 ges. gesättigt
 G Guanin
 H (NMR): Proton
 h Stunde(n)
 HCl Salzsäure
 HMBC Heteronuclear multi-bond connectivity
 HMQC Heteronuclear multiple-quantum coherence
 HPLC High pressure liquid chromatography (Hochdruckchromatographie)
 HRMS High resolution mass spectrometry (Hochauflösende Massenspektrometrie)
 HSQC Heteronuclear single quantum coherence
 Hz Hertz
 I Intensität
 iHex Isohexan
ⁱPr iso-Propyl
 IR Infrarot, Infrarotspektroskopie
J Kopplungskonstante (NMR)
 konz. konzentriert
 λ Wellenlänge
 L Liter; Ligand
 Lsg. Lösung
 m Multiplett (NMR); medium (mittel) (IR)
 M Molekulation (MS); Molar [mol/L]
 MALDI-TOF Matrix assisted laser desorption ionisation

*m*CPBA meta-Chlorperbenzoesäure
 Me Methyl
 MS Massenspektrometrie
 $\tilde{\nu}$ Wellenzahl
 NaOH Natronlauge
*n*Bu n-Butyl
 NEt₃ Triethylamin
 NHC *N*-Heterozyklisches Carben
 nm Nanometer, (1 nm = 10⁻⁹m)
 NMR Nuclear magnetic resonance (Kernresonanz)
 ODN Oligodeoxynukleotid
 p. a. pro analysi(zur Analyse)
 Pac Phenoxyacetyl
 PCR Polymerase chain reaction (Polymerase Kettenreaktion)
 Ph Phenyl
 Pol Polymerase
 ppm Parts per million
 Py Pyridin
 q Quartett, Quintett (NMR)
 quant. quantitativ
 R Rest
 R_f Retentionsfaktor
 Red-Al[®] Natrium-bis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydrid
 rel. relativ
 RNA Ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
 rpm Umdrehungen pro Minute
 RT Raumtemperatur
 s Sekunde(n), Singulett (NMR)
 t Triplett (NMR)
 T Temperatur; Thymin
^tBu tert -Butyl
 THF Tetrahydrofuran
 TMS *tert*-Butyldimethylsilyl, Tetramethylsilan
 ToF Time of Flight

Tris Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan

Ts Tosyl

U Uracil

UV Ultraviolett

Vis visible (sichtbar)

YFP Yellow fluorescent protein

z Ladungszahl (MS)

7. Quellenangaben

- ¹ a) F. Miescher, *Med.-Chem. Unters.* **1871**, 4, 441–460. *Über die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen.* b) R. Dahm *Hum. Genet.* **2008**, 122(6), 565–81. *Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research.*
- ² a) A. Kossel, *Z. Physiol. Chem.* **1885**, 8, 404–410. *Guanine.* b) *Ber. deut. chem. Ges.* **1885**, 18, 1928–1930. *Adenine.* c) A. Kossel, *Ber. Deut. Chem. Ges.* **1894**, 26, 2753–2756. *Thymine, a decomposition product of nucleic acids.* d) A. Kossel, H. Steudel, *Z. Physiol. Chem.* **1903**, 37, 377–380; *Z. Physiol. Chem.* **1903**, 38, 49–50. *Cytosine.*
- ³ P. Levene, *J. Biol. Chem.* **1919**, 40(2), 415–424. *The structure of yeast nucleic acid.*
- ⁴ a) W. T. Astbury, A. Street, *Trans. R. Soc. Lond.* **1931**, A230, 75–101. *X-ray studies of the structures of hair, wool and related fibres. I. General.* b) W. T. Astbury, *Trans. Faraday Soc.* **1933**, 29, 193–211. *Some Problems in the X-ray Analysis of the Structure of Animal Hairs and Other Protein Fibers.* c) W. T. Astbury, H. J. Woods, *Trans. R. Soc. Lond.* **1934**, A232, 333–394. *X-ray studies of the structures of hair, wool and related fibres. II. The molecular structure and elastic properties of hair keratin.* d) W. T. Astbury, W. A. Sisson, *Proc. R. Soc. Lond.* **1935**, A150, 533–551. *X-ray studies of the structures of hair, wool and related fibres. III. The configuration of the keratin molecule and its orientation in the biological cell.*
- ⁵ O. T. Avery, C. M. MacLeod, M. McCarty, *J. Exp. Med.* **1944**, 79, 137–158. *Studies of the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from Pneumococcus Type III.*
- ⁶ a) J. D. Watson, F. H. Crick, *Nature* **1953**, 171, 737–738. *A structure for Deoxyribose Nucleic Acid.* b) J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, 171, 964–967. *Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid.*
- ⁷ a) M. H. F. Wilkins, J. T. Randall, *Biochim. Biophys. Acta* **1953**, 10, 192–193. *Crystallinity in sperm heads: Molecular structure of Nucleoproteine in vivo.* b) M. H. F. Wilkins, W. E. Seeds, A. R. Stokes, H. R. Wilson, *Nature* **1953**, 172, 759–762. *Helical structure of crystalline deoxypentose nucleic acid.* c) R. Franklin, G. Gosling, *Nature* **1953**, 172, 156–157. *Evidence for 2-chain helix in crystalline structure of sodiumdeoxyribonucleate.* d) R. Franklin, R. Gosling, *Nature* **1953**, 171, 740–741. *Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate.*

- ⁸ a) E. Chargaff, *Experientia* **1950**, 6, 201–209. *Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation.* b) E. Chargaff, *Fed. Proc.* **1951**, 10, 654–659. *Structure and Function of Nucleic acids as Cell constituents.*
- ⁹ a) M. Münzel, D. Globisch, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 6460–6468. *5-Hydroxymethylcytosine, the Sixth Base of the Genome.* b) T. Pfaffeneder, B. Hackner, M. Truß, M. Münzel, M. Müller, C. A. Deiml, C. Hagemeyer, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 7008–7012. *The Discovery of 5-Formylcytosine in Embryonic Stem Cell DNA.* c) A. Szwagierczak, S. Bultmann, C. S. Schmidt, F. Spada, H. Leonhardt, *Nucl. Acids Res.* **2010**, 38(19), e181. *Sensitive enzymatic quantification of 5-hydroxymethyl-cytosine in genomic DNA.*
- ¹⁰ J. Müller, *Metallomics* **2010**, 2, 318–327. *Functional metal ions in nucleic acids.*
- ¹¹ J. Müller, M. Drumm, M. Boudvillain, M. Leng, E. Sletten, B. Lippert, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, 5, 603–611. *Parallel stranded DNA with Hoogsteen base pairing stabilized by a trans-[Pt(NH₃)₂]²⁺ cross-link: characterization and conversion into a homodimer and a triplex.*
- ¹² a) M. Gellert, M. N. Lipsett, D. R. Davies, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1962**, 48, 2013–2018. *Helix Formation By Guanylic Acid.* b) B. Ge, Y. C. Huang, D. Sen, H.-Z. Yu, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 10161–10163. *A Robust Electronic Switch Made of Immobilized Duplex/Quadruplex DNA.* c) Y. Sannohe, M. Endo, Y. Katsuda, K. Hidaka, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 16311–16313. *Visualization of Dynamic Conformational Switching of the G-Quadruplex in a DNA Nanostructure.*
- ¹³ a) J. E. Reed, S. Neidle, R. Vilar, *Chem. Commun.* **2007**, 4366–4368. *Stabilisation of human telomeric quadruplex DNA and inhibition of telomerase by a platinum–phenanthroline complex.* b) A. Arola-Arnal, J. Benet-Buchholz, S. Neidle, R. Vilar, *Inorg. Chem.* **2008**, 47(1), 11910–11919. *Effects of Metal Coordination Geometry on Stabilization of Human Telomeric Quadruplex DNA by Square-Planar and Square-Pyramidal Metal Complexes.* c) K. Suntharalingam, A. J. P. White, R. Vilar, *Inorg. Chem.* **2009**, 48, 9427–9435. *Synthesis, Structural Characterization, and Quadruplex DNA Binding Studies of Platinum(II)-Terpyridine Complexes.* d) P. Wu, D.-L. Ma, C.-H. Leung, S.-C. Yan, N. Zhu, R. Abagyan, C.-M. Che, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 13008–13021. *Stabilization of G-Quadruplex DNA with Platinum(II) Schiff Base Complexes: Luminescent Probe and Down-Regulation of c-myc Oncogene Expression.*

- ¹⁴ S. S. Alexandre, J. M. Soler, L. Seijo, F. Zamora, *Phys. Rev. B* **2006**, 73, 205112. *Geometry and electronic structure of M-DNA ($M=\text{Zn}^{2+}$, Co^{2+} , and Fe^{2+}).*
- ¹⁵ a) J. S. Lee, L. J. P. Latimer, R. S. Reid, *Biochem. Cell Biol.* **1993**, 71, 162–168. *A co-operative conformational change in duplex DNA induced by Zn^{2+} and other divalent metal ions.* b) P. Aich, S. L. Labiuk, L. W. Tari, L. J. T. Delbaere, W. J. Roesler, K. J. Falk, R. P. Steer, J. S. Lee, *J. Mol. Biol.* **1999**, 294, 477–485. *M-DNA: a complex between divalent metal ions and DNA which behaves as a molecular wire.*
- ¹⁶ E. Fusch, B. Lippert, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 7204–7209. *[$\text{Zn}_3(\text{OH})_2(1\text{-MeC-N3})(1\text{-MeC-O2})_3]^{4+}$ ($1\text{-MeC} = 1\text{-Methylcytosine}$): Structural Model for DNA Crosslinking and DNA Rewinding by Zn(II) ?*
- ¹⁷ a) P. Aich, R. J. S. Skinner, S. D. Wettig, R. P. Steer, J. S. Lee, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2002**, 20, 93–98. *Long range molecular wire behaviour in a metal complex of DNA.* b) B. Q. Spring, R. M. Clegg, *J. Phys. Chem. B* **2007**, 111, 10040–10052. *Fluorescence Measurements of Duplex DNA Oligomers under Conditions Conducive for Forming M DNA (a Metal DNA Complex).*
- ¹⁸ a) F. Zamora, M. Kunsman, M. Sabat, B. Lippert, *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 1583–1587. *Metal-Stabilized Rare Tautomers of Nucleobases. 6. Imino Tautomer of Adenine in a Mixed-Nucleobase Complex of Mercury(II).* b) B. Lippert, D. Gupta, *Dalton Trans.* **2009**, 4619–4634. *Promotion of rare nucleobase tautomers by metal binding.* c) B. Lippert, H. Schollhorn, U. Thewalt, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 6616–6621. *Metal-Stabilized Rare Tautomers of Nucleobases. I. Imino-oxo Form of Cytosine: Formation Through Metal Migration and Estimation of the Geometry of the Free Tautomer.* d) H. Schollhorn, U. Thewalt, B. Lippert, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 7213–7221. *Metal-stabilized rare tautomers of nucleobases. 2. 2-Oxo-4-hydroxo form of uracil: crystal structures and solution behavior of two platinum(II) complexes containing iminol tautomers of 1-methyluracil.*
- ¹⁹ a) N. C. Seeman, *Nature* **2003**, 421, 427–431. *DNA in a material world.* b) S. Ghosh, E. Defrancq, *Chem. Eur. J.* **2010**, 16(43), 12780–12787. *Metal Complex /DNA Conjugates: A Versatile Building Block for DNA Nanoarrays.* c) K. Tanaka, M. Shionoya, *Coord. Chem. Rev.* **2007**, 251, 2732–2742. *Programmable metal assembly on bio-inspired templates.*
- ²⁰ G. Brancolini, R. Di Felice, *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112, 14281–14290. *Electronic Properties of Metal-Modified DNA Base Pairs.*

- ²¹ S. S. Mallajosyula, S. K. Pati, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48(27), 4977–4981. *Conformational Tuning of Magnetic Interactions in Metal–DNA Complexes.*
- ²² a) G. H. Clever, M. Shionoya, *Coord.Chem. Rev.* **2010**, 254, 2391–2402. *Metal–base pairing in DNA.* b) G. H. Clever, C. Kaul, T. Carell *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 6226–6236. *DNA-metal base pairs.* c) J. Müller, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2008**, 3749–3763. *Metal-Ion-Mediated Base Pairs in Nucleic Acids.*
- ²³ a) Y. Miyake, H. Togashi, M. Tashiro, H. Yamaguchi, S. Oda, M. Kudo, Y. Tanaka, Y. Kondo, R. Sawa, T. Fujimoto, T. Machinami, A. Ono, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 2172–2173. *Mercury(II)-Mediated Formation of Thymine Hg(II) Thymine Base Pairs in DNA Duplexes.* b) A. Ono, S. Cao, H. Togashi, M. Tashiro, T. Fujimoto, T. Machinami, S. Oda, Y. Miyake, I. Okamoto, Y. Tanaka, *Chem. Commun.* **2008**, 4825–4827. *Specific interactions between silver(I) ions and cytosine-cytosine pairs in DNA duplexes.*
- ²⁴ S. Katz, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 2238–2245. *The Reversible Reaction of Sodium Thymonucleate and Mercuric Chloride.*
- ²⁵ Z. Kuklenyik, L. G. Marzilli, *Inorg. Chem.* **1996**, 35(19), 5654–5662. *Mercury(II) Site-Selective Binding to a DNA Hairpin. Relationship of Sequence-Dependent Intra- and Interstrand Cross-Linking to the Hairpin-Duplex Conformational Transition.*
- ²⁶ A. A. Voityuk, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110(42), 21010–21013. *Electronic Coupling Mediated by Stacked [Thymine-Hg-Thymine] Base Pairs.*
- ²⁷ a) H. Torigoe, A. Ono, T. Kozasa, *Chem.* **2010**, 16, 13218–13225. *Hg(II) ion specifically binds with T:T mismatched base pair in duplex DNA.* b) A. Ono, H. Togashi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 4300–4302. *Highly Selective Oligonucleotide-Based Sensor for Mercury(II) in Aqueous Solutions.* c) H. Torigoe, A. Ono, T. Kozasa, *Chem.* **2010**, 16(44), 13218–13225. *Hg(II) ion specifically binds with T:T mismatched base pair in duplex DNA.* d) H. Sugiyama, N. Adachi, S. Kawauchi, T. Kozasa, T. Katayama, H. Torigoe, A. Ono, Y. Tamura. *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2005**, 49(1), 215–216. *Computational evaluation of the specific interaction between cation and mismatch base pair.* e) H. Torigoe, Y. Miyakawa, A. Ono, T. Kozasa, *Thermochim. Acta* **2011**, doi:10.1016/j.tca.2011.03.018. *Positive cooperativity of the specific binding between Hg²⁺ ion and T:T mismatched base pairs in duplex DNA.* f) T. Ono, K. Yoshida, Y. Saotome, R. Sakabe, I. Okamoto, A. Ono, *Chem. Commun.* **2011**, 47,

- 1542–1544. *Synthesis of covalently linked parallel and antiparallel DNA duplexes containing the metal-mediated base pairs T–Hg(II)–T and C–Ag(I)–C.* g) H. Torigoe, Y. Miyakawa, A. Ono, T. Kozasa, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acid* **2011**, 30(2), 149–167. *Thermodynamic properties of the specific binding between Ag⁺ ions and C:C mismatched base pairs in duplex DNA.* h) T. Kozasa, Y. Miyakawa, M. Fukushi, A. Ono, H. Torigoe, *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2009**, 53(1), 179–180. *Development of a novel method to determine the concentration of heavy metal cations: Application of the specific interaction between heavy metal cation and mismatch DNA base pair.*
- 28 H. Urata, E. Yamaguchi, Y. Nakamura, S.-i. Wada, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 941–943. *Pyrimidine–pyrimidine base pairs stabilized by silver(I) ions.*
- 29 A. Ono, H. Torigoe, Y. Tanaka, I. Okamoto, *Chem. Soc. Rev.* **2011**. doi: 10.1039/c1cs15149e. *Binding of metal ions by pyrimidine base pairs in DNA duplexes.*
- 30 H. Weizman, Y. Tor, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3375–3376. *2,2'-Bipyridine Ligandosome: A Novel Building Block for Modifying DNA with Intra-Duplex Metal Complexes.*
- 31 K. Tanaka, M. Shionoya, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 5002–5003. *Synthesis of a Novel Nucleoside for Alternative DNA Base Pairing through Metal Complexation.*
- 32 E. Meggers, P. L. Holland, W. B. Tolman, F. E. Romesberg, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 10714–10715. *A Novel Copper-Mediated DNA Base Pair.*
- 33 S. Atwell, E. Meggers, G. Spraggon, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 12364–12367. *Structure of a Copper Mediated Base Pair in DNA.*
- 34 C. Switzer, D. Shin, *Chem. Commun.* **2005**, 1342–1344. *A pyrimidine-like nickel (II) base pair.*
- 35 C. Switzer, S. Sinha, P. Kim, B. Heuberger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 1529–1532. *A Purine-like Nickel(II) Base Pair for DNA.*
- 36 C. Brotschi, C. J. Leumann, *Nucleosides, Nucleotides, Nucleic Acids* **2003**, 22, 1195–1197. *Transition Metal Ligands as Novel DNA-Base Substitutes.*
- 37 K. Tanaka, Y. Yamada, M. Shionoya, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 8802–8803. *Formation of Silver (I)-Mediated DNA Duplex and Triplex through an Alternative Base Pair of Pyridine Nucleobases.*
- 38 F. A. Polonius, J. Müller, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 5698–5701. *Ein durch Wasserstoffbrücken und Metallionenbindung vermitteltes, künstliches Basenpaar.*

- ³⁹ F. Seela, T. Wenzel, *Helv. Chim. Acta* **1994**, 77, 1485–1499. 133. *Hoogsteen-Duplex DNA: Synthesis and Base Pairing of Oligonucleotides Containing l-Deaza-2'-deoxyadenosine.*
- ⁴⁰ G. H. Clever, K. Polborn, T. Carell, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 7370–7374; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 7204–7208. *Ein hochgradig DNA-Duplex-stabilisierendes Metall-Salen-Basenpaar.*
- G. H. Clever, Y. Sörtl, H. Burks, W. Spahl, T. Carell, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 8708–8718. *Metal-Salen-Base-Pair Complexes inside DNA: complexation overrides sequence Information.*
- ⁴² Y. Miyake, H. Togashi, M. Tashiro, H. Yamaguchi, S. Oda, M. Kudo, Y. Tanaka, Y. Kondo, R. Sawa, T. Fujimoto, T. Machinami, A. Ono, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 2172–2173. *Mercury^{II}-Mediated Formation of Thymine-Hg^{II}-Thymine Base Pairs in DNA Duplexes.*
- ⁴³ S. Johannsen, N. Megger, D. Böhme, R. K. O. Sigel, J. Müller, *Nat. Chem.* **2010**, 2, 229–234. *Solution structure of a DNA double helix with consecutive metal-mediated base pairs.*
- ⁴⁴ K. Tanaka, A. Tengeiji, T. Kato, N. Toyama, M. Shionoya, *Science* **2003**, 299, 1212–1213. *A Discrete Self-Assembled Metal Array in Artificial DNA.*
- ⁴⁵ Y. Takezawa, W. Maeda, K. Tanaka, M. Shionoya, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 1101–1104. *Discrete Self-Assembly of Iron(III) Ions inside Triple-Stranded Artificial DNA.*
- ⁴⁶ G. H. Clever, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 250–253; *Angew. Chem.* **2007**, 119, 254–257. *Controlled Stacking of 10 Transition-Metal Ions inside a DNA Duplex.*
- ⁴⁷ K. Tanaka, G. H. Clever, Y. Takezawa, Y. Yamada, C. Kaul, M. Shionoya, T. Carell, *Nat. Nanotechnol.* **2006**, 1, 190–194. *Programmable self-assembly of metal ions inside artificial DNA duplexes.*
- ⁴⁸ J. S. Miller, A. J. Epstein, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 399–432. *Organische und metallorganische molekulare magnetische Materialien: Designer-Magnete.*
- ⁴⁹ H. Urata, E. Yamaguchi, T. Funai, Y. Matsumura, S. Wada, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 6516–6519. *Incorporation of Thymine Nucleotides by DNA Polymerases through T-Hg(II)-T Base Pairing.*

- 50 K. S. Park, C. Jung, H. G. Park, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 492, 9757–9760.
„Illusionary“ Polymerase Activity Triggered by Metal Ions: Use for Molecular
Logic-Gate Operations.
- 51 C. Kaul, M. Müller, M. Wagner, S. Schneider, T. Carell, *Nat. Chem.* **2011**, 3,
794–800. *Reversible bond formation enables the replication and amplification of a*
crosslinking salen complex as an orthogonal base pair.
- 52 M. K. Schlegel, L.-O. Essen, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130(26), 8158–
8159. *Duplex Structure of a Minimal Nucleic Acid.*
- 53 a) L. Zhang, A. Peritz, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 4174–4175. *A*
Simple Glycol Nucleic Acid. b) L. Zhang, A. E. Peritz, P. J. Carroll, E. Meggers,
Synthesis **2006**, 645–653. *Synthesis of Glycol Nucleic Acids.* c) M. K. Schlegel, A.
E. Peritz, K. Kittigowittana, L. Zhang, E. Meggers, *Chem. Bio. Chem.* **2007**, 8,
927–932. *Duplex Formation of the Simplified Nucleic Acid GNA.* d) M. K.
Schlegel, X. Xie, L. Zhang, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 960–963.
Insight into the High Duplex Stability of the Simplified Nucleic Acid GNA.
- 54 M. K. Schlegel, L. Zhang, N. Pagano, E. Meggers, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7,
476–482. *Metal-Mediated Base Pairing within the Simplified Nucleic Acid GNA.*
- 55 K. Seufert, C. Fonseca Guerra, F. M. Bickelhaupt, J. Müller, *Chem. Commun.* **2011**,
47, 11041–11043. *Chimeric GNA/DNA metal-mediated base pairs.*
- 56 D.-L. Popescu, T. J. Parolin, C. Achim, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 6354–6355.
Metal Incorporation in Modified PNA Duplexes.
- 57 R. M. Watson, Y. A. Skorik, G. K. Patra, C. Achim, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127,
14628–14639. *Influence of Metal Coordination on the Mismatch Tolerance of*
Ligand-Modified PNA Duplexes.
- 58 E. Braun, Y. Eichen, U. Sivan, G. Ben-Yoseph, *Nature* **1998**, 391, 775–778. *DNA-*
templated assembly and electrode attachment of a conducting silver wire.
- 59 K. Keren, M. Krueger, R. Gilad, G. Ben-Yoseph, U. Sivan, E. Braun, *Science* **2002**,
297, 72–75. *Sequence Specific Molecular Lithography on Single DNA Molecules.*
- 60 G. A. Burley, J. Gierlich, M. R. Mofid, H. Nir, S. Tal, Y. Eichen, T. Carell, *J. Am.*
Chem. Soc. **2006**, 128, 1398–1399. *Directed DNA Metallization.*
- 61 M. M. Knagge, J. J. Wilker, *Chem. Commun.* **2007**, 3356–3358. *Ligand-based back-*
bone modifications for metal-chelating nucleic acids.

- 62 J. L. Czapinski, T L. Sheppard, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8618–8619. *Nucleic acid template-directed assembly of metallosalen-DNA conjugates.*
- 63 H. Yanga, K. L. Meterab, H. F. Sleiman, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 2403–2415. *DNA modified with metal complexes: Applications in the construction of higher order metal –DNA nanostructures.*
- 64 N. Zimmermann, E. Meggers, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*(46), 13684–13685. *A Novel Silver(I)-Mediated DNA Base Pair.*
- 65 O. Iranzo, H. Khalili, D. M. Epstein, J. R. Morrow, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 462–470. *Recruitment of divalent metal ions by incorporation of 4-thio-2'-deoxythymidine or 4-thio-2'-deoxyuridine into DNA.*
- 66 Y. Takezawa, K. Tanaka, M. Yori, S. T. M. Shiro, M. Shionoya, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6092–6098. *Soft Metal-Mediated Base Pairing with Novel Synthetic Nucleosides Possessing an O,S-Donor Ligand.*
- 67 a) A. Hatano, S. Makita, M. Kirihaara, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1723–1730. *Synthesis and redox-active base-pairing properties of DNA incorporating mercapto C-Nucleosides.* b) A. Hatano, S. Makita, M. Kirihaara, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2459–2462. *Synthesis and characterization of a DNA analogue stabilized by mercapto C-nucleoside induced disulfide bonding.*
- 68 I. Okamoto, K. Seio, M. Sekine, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3334–3336. *Triplex forming ability of oligonucleotides containing 2'-O-methyl-2-thiouridine or 2-thiothymidine.*
- 69 H. O. Sintim, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 396–397. *Enhanced Base Pairing and Replication Efficiency of Thiothymidines, Expanded-size Variants of Thymidine.*
- 70 a) M. J. Gaunt, C. C.C. Johansson, A. McNally, N. T. Vo, *Drug Disc.* **2007**, *12*, 8–27. *Enantioselective organocatalysis.* b) S. Bertelsen, K. A. Jørgensen, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2178–2189. *Organocatalysis—after the gold rush.*
- 71 P. J. Walsh H. Li, C. Anaya de Parrodi, *Chem Rev.* **2007**, *107*(6), 2503–2545. *A Green Chemistry Approach to Asymmetric Catalysis: Solvent-Free and Highly Concentrated Reactions.*
- 72 A. J. Boersma, R. P. Megens, B. L. Feringa, G. Roelfes, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2083–2092. *DNA-based asymmetric catalysis.*

- 73 D. Coquiere, B. L. Feringa, G. Roelfes, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 9308–9311. *DNA-Based Catalytic Enantioselective Michael Reactions in Water.*
- 74 G. Roelfes, B. L. Feringa, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 3294–3296. *DNA-Based Asymmetric Catalysis.* b) F. Rosati, A. J. Boersma, J. E. Klijn, A. Meetsma, B. L. Feringa, G. Roelfes, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 9596–9605. *A Kinetic and Structural Investigation of DNA-Based Asymmetric Catalysis Using First-Generation Ligands.* c) G. Roelfes, A. J. Boersma, B. L. Feringa, *Chem. Commun.* **2006**, 635–637. *Highly enantioselective DNA-based catalysis.* d) A. J. Boersma, B. L. Feringa, G. Roelfes, *Org. Lett.* **2007**, 9, 3647–3650. *α,β -Unsaturated 2-acyl imidazoles as a practical class of dienophiles for the DNA-based catalytic asymmetric Diels-Alder reaction in water.*
- 75 A. J. Boersma, D. Coquiere, D. Geerdink, F. Rosati, B. L. Feringa, G. Roelfes, *Nature Chem.* **2010**, 2, 991–995. *Catalytic enantioselective syn hydration of enones in water using a DNA-based catalyst.*
- 76 A. J. Boersma, J. E. Klijn, B. L. Feringa, G. Roelfes, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 11783–11790. *DNA-Based Asymmetric Catalysis: Sequence-Dependent Rate Acceleration and Enantioselectivity.*
- 77 N. Shibata, H. Yasui, S. Nakamura, T. Toru, *Synlett* **2007**, 1153–1157. *DNA-Mediated Enantioselective Carbon-Fluorine Bond Formation.*
- 78 P. Fournier, R. Fiammengo, A. Jäschke, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 4426–4429. *Allylic Amination by a DNA–Diene–Iridium(I) Hybrid Catalyst.*
- 79 K. E.-M. Gutmiedl, Dissertation, LMU München, **2010**. *Entwicklung von Kupfer(I)-katalysierten und kupferfreien Methoden zur postsynthetischen Funktionalisierung von Biomolekülen.*
- 80 Z. Tang, A. Marx, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 7297–7300. *Proline-Modified DNA as Catalyst of the Aldol Reaction.*
- 81 J. Fan, G. Sun, C. Wan, Z. Wang, Y. Li, *Chem. Commun.* **2008**, 3792–3794. *Investigation of DNA as a catalyst for Henry reaction in water.*
- 82 C. J. Moody, G. H., Whitham, VCH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, **1995**. *Reaktive Zwischenstufen.*
- 83 A. J. Arduengo, R. Harlow, M. Kline, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 361–363. *A Stable Crystalline Carbene.*
- 84 H.-W. Wanzlick, H.-J. Schönherr, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1970**, 731, 176–179. *Chemistry of nucleophilic carbenes. 1,3,4,5-Tetraphenylimidazolium perchlorate.*

- 85 a) D. A. Dixon, A. J. Arduengo, *J. Phys. Chem.* **1991**, 95, 4180–4182. *Electronic structure of a stable nucleophilic carbene.* b) J. Cioslowski, *Int. J. Quantum Chem.* **1993**, 27, 309–319. *Rigorous interpretation of electronic wave functions. Origins of the unusual stability of the 1,3-dimethylimidazol-2-ylidene carbene.*
- 86 a) N. Marion, S. Diez-González, S. P. Nolan, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 3046–3058. *N-heterocyclische Carbene als Organokatalysatoren.* b) E. Assen, B. Kantchev, C. J. O'Brien, M. G. Organ, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 2824–2870. *Aus der Sicht des Synthetikers: Palladiumkomplexe N-heterocyclischer Carbene als Katalysatoren für Kreuzkupplungen.*
- 87 a) W. A. Herrmann, C. Köcher, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, 36, 2162–2187. *N-Heterocyclic Carbenes.* b) W. A. Herrmann, M. Elison, J. Fischer, C. Köcher, G. R. J. Artus, *Chem. Eur. J.* **1996**, 2(7), 772–780. *N-Heterocyclic Carbenes: Generation under Mild Conditions and Formation of Group 8-10 Transition Metal Complexes Relevant to Catalysis.*
- 88 a) H. M. J. Wang, I. J. B. Lin, *Organometallics* **1998**, 17, 972–975. *Facile Synthesis of Silver(I) Carbene Complexes. Useful Carbene Transfer Agents.* b) J. M. Hayes, M. Viciano, E. Peris, G. Ujaque, A. Lledós, *Organometallics* **2007**, 26, 6170–6183. *Mechanism of Formation of Silver N-Heterocyclic Carbenes Using Silver Oxide: A Theoretical Study.*
- 89 a) C.Y. Legault, C. Kendall, A. B. Charette, *Chem. Commun.* **2005**, 3826–3828. *Structure and reactivity of a new anionic N-heterocyclic carbene silver(I) complex.* b) C. Scarborough, B. V. Popp, I. A. Guzei, S. S. Stahl, *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690, 6143–6155. *Development of 7-Membered N-Heterocyclic Carbene Ligands for Transition Metals.* c) O. Guerret, S. Solé, H. Gornitzka, M. Teichert, G. Trinquier, G. Bertrand, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 6668–6669. *1,2,4-Triazole-3,5-diylidene: A Building Block for Organometallic Polymer Synthesis.* d) O. Guerret, S. Solé, H. Gornitzka, G. Trinquier, G. Bertrand, *J. Organomet. Chem.* **2000**, 600, 112–117. *1,2,4-Triazolium-5-ylidene and 1,2,4-triazol-3,5-diylidene as new ligands for transition metals.*
- 90 A. A. D. Tulloch, A. A. Danopoulos, S. Winston, S. Kleinhenz, G. Eastham, *Dalton Trans.* **2000**, 4499–4506. *N-Functionalised heterocyclic carbene complexes of silver.* b) G. Xu, S. R. Gilbertson, *Org. Lett.* **2005**, 7, 4605–4608. *Development of Building Blocks for the Synthesis of N-Heterocyclic Carbene Ligands.* c) J. J. Van Veldhuizen,

- S. B. Garber, J. S. Kingsbury, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4954–4955. *A Recyclable Chiral Ru Catalyst for Enantioselective Olefin Metathesis. Efficient Catalytic Asymmetric Ring-Opening/Cross Metathesis in Air.*
- ⁹¹ a) K. M. Lee, H. M. J. Wang, I. J. B. Lin, *Dalton Trans.* **2002**, 2852–2856. *Structural diversity of N-heterocyclic carbene complexes of silver(I).* b) C. K. Lee, C. S. Vasam, T. W. Huang, H. M. J. Wang, R. Y. Yang, C. S. Lee, I. J. B. Lin, *Organometallics* **2006**, *25*, 3768–3775. *Silver(I) N-Heterocyclic Carbenes with Long N-Alkyl Chains.* c) P. de Frémont, N. M. Scott, E. D. Stevens, T. Ramnial, O. C. Lightbody, C. L. B. Macdonald, J. A. C. Clyburne, C. D. Abernethy, S. P. Nolan, *Organometallics* **2005**, *24*, 6301–6309. *Synthesis of Well-Defined N-Heterocyclic Carbene Silver(I) Complexes.* e) S. P. Downing, A. A. Danopoulos, *Organometallics* **2006**, *25*, 1337–1340. *Indenyl- and Fluorenyl -Functionalized N-Heterocyclic Carbene Complexes of Titanium and Vanadium.*
- ⁹² I. J. B. Lin, C. S. Vasam, *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 642–670. *Preparation and application of N-heterocyclic carbene complexes of Ag(I).*
- ⁹³ a) J. C. Garrison, W. J. Youngs, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 3978–4008. *Ag(I) N-Heterocyclic Carbene Complexes: Synthesis, Structure, and Application.* b) A. Kascatan-Nebioglu, M. J. Panzner, C. A. Tessier, C. L. Cannon, W. J. Youngs, *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 884–895. *N-Heterocyclic carbene–silver complexes: A new class of antibiotics.*
- ⁹⁴ C. A. Citadelle, E. Le Nouy, F. Bisaro, A. M. Z. Slawin, C. S. J. Cazin, *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 4489–4491. *Simple and versatile synthesis of copper and silver N-heterocyclic carbene complexes in water or organic solvents.*
- ⁹⁵ P. L. Arnold, *Het. Chem.* **2002**, *13*(6), 534–539. *Organometallic Chemistry of Silver and Copper N-Heterocyclic Carbene Complexes.*
- ⁹⁶ a) R. S. Simons, P. Custer, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *Organometallics* **2003**, *22*, 1979–1982. *Formation of N-Heterocyclic Complexes of Rhodium and Palladium from a Pincer Silver(I) Carbene Complex.* b) A. Kascatan-Nebioglu, M. J. Panzner, J. C. Garrison, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *Organometallics* **2004**, *23*, 1928–1931. *Synthesis and Structural Characterization of N-Heterocyclic Carbene Complexes of Silver(I) and Rhodium(I) from Caffeine.* c) M. Mayr, K. Wurst, K.-H. Ongania, M. R. Buchmeiser, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1256–1266. *1,3-Dialkyl- and 1,3-Diaryl-3,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylidene Rhodium(I) and Palladium(II) Complexes: Synthesis,*

Structure, and Reactivity. d) M. Frøseth, A. Dhindsa, H. Røise, M. Tilset, *Dalton Trans.* **2003**, 4516–4524. *Synthesis and characterization of palladium(II) complexes with anovel chelating iminocarbene ligand.* e) R. E. Douthwaite, J. Houghton, B. M. Kariuki, *Chem. Commun.* **2004**, 698–699. *The synthesis of a di-N-heterocyclic carbene-amido complex of palladium(II).* f) R. Wang, B. Twamley, J. M. Shreeve, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 426–429. *A Highly Efficient, Recyclable Catalyst for C-C Coupling Reactions in Ionic Liquids: Pyrazolyl-Functionalized N-Heterocyclic Carbene Complex of Palladium(II).*

97

a) A. R. Chianese, X. Li, M. C. Janzen, J. W. Faller, R. H. Crabtree, *Organometallics* **2003**, 22, 1663–1667. *Rhodium and Iridium Complexes of N-Heterocyclic Carbenes via Transmetalation: Structure and Dynamics.* b) T. Fujihara, Y. Obara, M. Tokunaga, H. Sato, Y. Tsuji, *Chem. Commun.* **2005**, 4526–4528. *Dendrimer N-heterocyclic carbene complexes with rhodium(I) at the core.* c) K. S. Coleman, H. T. Chamberlayne, S. Turberville, M. L. H. Green, A. R. Cowley, *Dalton Trans.* **2003**, 2917–2922. *Silver(I) complex of a new imino-N-heterocyclic carbene and ligand transfer to palladium(II) and rhodium(I).* d) R. S. Simons, P. Custer, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *Organomet.* **2003**, 22, 1979–1982, *Formation of N-Heterocyclic Complexes of Rhodium and Palladium from a Pincer Silver(I) Carbene Complex.*

98

a) M. V. Baker, P. J. Barnard, S. K. Brayshaw, J. L. Hickey, B. W. Skelton, A. H. White, *Dalton Trans.* **2005**, 37–43. *Synthetic, structural and spectroscopic studies of (pseudo)halo(1,3-di-tert-butylimidazol-2-ylidene)gold complexes.* b) S. K. Schneider, W. A. Herrmann, E. Herdtweck, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2003**, 629, 2363–2370. *Synthesis of the First Gold(I) Carbene Complex with a Gold-Oxygen Bond – First Catalytic Application of Gold(I) Complexes Bearing N-Heterocyclic Carbenes.* c) V. J. Catalano, M. A. Malwitz, A. O. Etogo, *Inorg. Chem.* **2004**, 43(18), 5714–5724. *Pyridine Substituted N-Heterocyclic Carbene Ligands as Supports for Au(I)–Ag(I) Interactions: Formation of a Chiral Coordination Polymer.* d) H. M. J. Wang, C. S. Vasam, T. Y. R. Tsai, S.-H. Chen, A. H. H. Chang, I. J. B. Lin, *Organometallics* **2005**, 24, 486–493. *Gold(I) N-Heterocyclic Carbene and Carbazolate Complexes.* e) P. de Frémont, N. M. Scott, E. D. Stevens, S. P. Nolan, *Organometallics* **2005**, 24, 2411–2418. *Synthesis and Structural Characterization of N-Heterocyclic Carbene Gold(I) Complexes.* f) H. M. J. Wang, C. Y. L. Chen, I. J. B. Lin, *Organometallics* **1999**, 18, 1216–1223. *Synthesis, Structure, and Spectroscopic Properties of Gold(I)*

- Carbene Complexes.* g) H. M. J. Wang, I. J. B. Lin, *Organometallics* **1998**, *17*, 972–975. *Facile Synthesis of Silver(I) Carbene Complexes. Useful Carbene Transfer Agents.*
- 99 a) J. C. Garrison, R. S. Simons, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *J. Organomet. Chem.* **2003**, *673*, 1–4. *Synthesis and structural characterization of a $[Ag_4]^{4+}$ cluster stabilized by a mixed-donor N-heterocyclic carbene linked cyclophane and the first reported synthesis of a N-heterocyclic carbene complex in water.* b) A. Kascatan-Nebioglu, M. J. Panzner, J. C. Garrison, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *Organometallics* **2004**, *23*, 1928–1931. *Synthesis and Structural Characterization of N-Heterocyclic Carbene Complexes of Silver(I) and Rhodium(I) from Caffeine.* c) C. A. Quezada, J. C. Garrison, M. J. Panzner, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *Organometallics* **2004**, *23*, 4846–4848. *The Potential Use of Rhodium N-Heterocyclic Carbene Complexes as Radiopharmaceuticals: The Transfer of a Carbene from Ag(I) to $RhCl_3 \cdot 3H_2O$.* d) A. Melaiye, R. S. Simons, A. Milsted, F. Pingitore, C. Wesdemiotis, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 973–977. *Formation of Water-Soluble Pincer Silver(I) Carbene Complexes: A Novel Antimicrobial Agent.*
- 100 W. A. Herrmann, C. Köcher, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2256–2282. *N-Heterozyklische Carbene.*
- 101 R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3719–3726. *Mechanism of thiamine action. IV. Evidence from studies on model systems.*
- 102 Y. Hachisu Y, J. W. Bode, K. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8432–8433. *Catalytic intramolecular crossed aldehyde-ketone benzoin reaction: a novel synthesis of functionalized preanthraquinones.*
- 103 A. E. Mattson, A. R. Bharadwaj, K. A. Scheidt, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *126*, 2314–2315. *The thiazolium-catalyzed Sila-Stetter reaction: conjugate addition of acylsilanes to unsaturated esters and ketones.*
- 104 M. Pohl, G. A. Sprenger, M. Müller, *Curr. Opin. Biotech.* **2004**, *15*, 335–342. *A new perspective on thiamine catalysis.*
- 105 R. Kluger, K. Tittmann, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1797–1833. *Thiamin Diphosphate Catalysis: Enzymic and Nonenzymic Covalent Intermediates.*
- 106 G. D. Thorn, R. A. Ludwig, Elsevier, Amsterdam, **1962**. *The Dithiocarbamates and Related Compounds.*

- 107 L. Ronconi, D. Fregona, *Dalton Trans.* **2009**, 10670–10680. *The Midas touch in cancer chemotherapy: from platinum- to gold-dithiocarbamate complexes.*
- 108 J. v. Braun, *Ber. Deut. Chem. Ges.* **1902**, 35, 3368–3388. *Ueber Dithiourethane.*
- 109 a) P. K. Mohanta, S. Dhar, S. K. Samal, H. Ila, H. Junjappa, *Tetrahedron* **2000**, 56, 629–637. *1-(Methyldithiocarbonyl)imidazole: a Useful Thiocarbonyl Transfer Reagent for Synthesis of Substituted Thioureas.* b) W. Y. Sun, J. Q. Hu, Y. P. Shi, *Synlett* **1997**, 1279–1280. *1-(Methyldithiocarbonyl)imidazole: A Reagent of S-Methyldithiocarbonylation.*
- 110 a) K. Schulbert, R. Mattes, *Z. Naturforsch.* **1993**, 48b, 1227–1233. *Kupfer- und Goldkomplexe von Dithiocarbaminsäureestern. Strukturen von $[\text{CuCl}(\text{L}^1)_3 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2]$, $[\text{AuCl}(\text{L}^1)_2]$, $[\text{CuI}(\text{L}^1)(\text{PPh}_3)_2]$ und $[\text{Cu}_2^{\text{I}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cl}_4(\text{L}^2)_2]_n$ ($\text{L}^1 = \text{N-Phenyl-S-methyldithiocarbaminsäureester}$, $\text{L}^2 = \text{N,N-Dimethyl-S-methyldithiocarbaminsäureester}$.* b) R. Mattes, K. Schulbert, *Z. Naturforsch.* **1991**, 46b, 468–474. *Dimere und polymere Kupfer(I)-Komplexe von Dithiocarbaminsäureestern. Strukturen von $[\text{CuI}(\text{L}^1)_2]_2$ und $[\text{CuCl}(\text{L}^2)_2]_2$, $[\text{CuCl}(\text{L}^1)]_n$ und $[\text{CuI}(\text{L}^2)]_n$ ($\text{L}^1 = \text{N-Methyl-S-methyldithiocarbaminsäureester}$, $\text{L}^2 = \text{N-Phenyl-S-methyldithiocarbaminsäureester}$.* c) K. Schulbert, R. Mattes, *Z. Naturforsch.* **1994**, 49b, 770–772. *Strukturen der mehrkernigen Nickelthiolato-Komplexe $[\mu\text{-SMe}_2(\text{Ni}(\text{MeNHCS}_2))_2]$ und $\text{cyclo-}[\mu\text{-SMe}_2\text{Ni}]_6$.* d) K. Schulbert, R. Mattes, *Z. anorg. allg. Chem.* **1995**, 621, 72–76. *Deprotonierte Dithiocarbaminsäureester als Thiolat-S-Donor-Liganden. Strukturen von $\text{Ph}(\text{H})\text{NC}(\text{S})\text{SMe}$, $\text{Co}(\text{PhNC}(\text{S})\text{SMe})_3$ und $\text{Cu}_6(\text{PhNC}(\text{S})\text{SMe})_6$.*
- 111 a) G. Faraglia, L. Sindellari, L. Trincia, A. Furlani, V. Scarcia, *Inorg. Chim. Acta* **1985**, 106, 31–35. *Complexes of Platinum(II) Halides with Dithiocarbamic Esters.* b) U. Casellato, G. Fracasso, R. Graziani, L. Sindellari, A. S. Gonzáles, M. Nicolini, *Inorg. Chim. Acta* **1990**, 167, 21–24. *Gold(I) Complexes of Thio- and Dithiocarbamate Esters. The Structure of Bis(N-methyl-O-ethyl-thiocarbamate)gold(I) Chloride.* c) G. Faraglia, L. Sindellari, *Trans. Met. Chem.* **1994**, 19, 248–252. *Palladium (II) halide complexes with dithioesters derived from sarcosine.* d) G. Faraglia, R. Musumeci, L. Sindellari, F. Braga, *Inorg. Chim. Acta* **1983**, 73, 47–51. *Bismuth (III) Halide Complexes with Thiocarbamic Esters.* e) G. Faraglia, S. Sitran, *Inorg. Chim. Acta* **1990**, 67–73. *The behaviour of dithiocarbamic ester palladium(II) and platinum (II) complexes in dimethyl sulfoxide.* f) G. Faraglia, L. Sindellari, *Thermochim. Acta* **1990**, 161, 63–73. *Thermal S-Demethylation in Palladium(II) and Platinum(II) Com-*

- plexes with *S*-Methyl *N,N*-Dialkyldithiocarbamates. g) D. Fregona, S. Tenconi, G. Faraglia, S. Sitran, *Polyhedron* **1997**, 16(21), 3795–3805. *Functionalized dithioester and dithiocarbamate complexes of platinum(II) halides*. h) G. Faraglia, D. Longo, V. Cherchi, *Polyhedron* **1995**, 14(13-14), 1905–1914. *Decomposition Intermediates in Palladium-Dithioester Systems*. i) G. Faraglia, S. Sitran, D. Montagner, *Inorg. Chim. Acta* **2005**, 358, 971–980. *Pyrrolidine dithiocarbamates of Pd(II)*. j) G. Faraglia, M. A. Fedrigo, S. Sitran, *Trans. Met. Chem.* **2002**, 27, 200–206. *Palladium(II) and platinum(II) complexes of dithiocarbamates and L-methioninol*. k) D. A. Clemente, G. Faraglia, L. Sindellari, L. Trincia, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1987**, 1823–1826. *Mixed Chloro-, NN-Dialkyldithiocarbamate-, and S-Alkyl NN-dialkyldithiocarbamate Complexes of Platinum(II). Crystal Structure of [PtCl(S₂CNEt₃)(MeS₂CNEt₂)]*. l) G. Faraglia, F. Barbaro, L. Sindellari, *Trans. Met. Chem.* **1987**, 12, 457–460. *Mixed dimethyl sulphoxide-thiocarbamic ester complexes of platinum(II) halides*.
- ¹¹² L. Giovagnini, L. Ronconi, D. Aldinucci, D. Lorenzon, S. Sitran, D. Fregona, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1588–1595. *Synthesis, Characterization, and Comparative in Vitro Cytotoxicity Studies of Platinum(II), Palladium(II), and Gold(III) Methylsarcosine-dithiocarbamate Complexes*.
- ¹¹³ K. R. G. Devi, D. N. Sathynarayana, *Ind. J. Chem.* **1981**, 20A, 980–981. *Charge Transfer & Metal Complexes of Dithiocarbamate Esters*.
- ¹¹⁴ K. S. Arulsamy, R. F. N. Ashok, U. C. Agarwala, *Ind. J. Chem.* **1984**, 23A, 127–132. *Complexing Behaviour of Ethyl N-Phenyldithiocarbamate: Structural Studies of Complexes of Fe(II), Ru(II), Co(II), Rh(III), Rh(I), Ni(II), Pd(0), Pt(0), Pt(II), Ag(I), Zn(II), Cd(II) & Hg(II)*.
- ¹¹⁵ a) M. G. Pike, D. C. Mays, D. W. Macomber, J. J. Lipsky, *Drug Metabol. Disp.* **2001**, 29(2), 127–132. *Metabolism of a Disulfiram Metabolite, S-Methyl N,N-Diethyldithiocarbamate, by Flavin Monooxygenase in Human Renal Microsomes*. b) A. Madan, M. D. Faiman, *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **1995**, 272(2), 775–780. *Characterization of Diethyldithiocarbamate Methyl Ester Sulfine as an Intermediate in the Bioactivation of Disulfiram*. c) T. Gessner, M. Jakubowski, *Biochem. Pharmacol.* **1972**, 21, 219–230. *Diethyldithiocarbamic Acid Methyl Ester A Metabolite of Disulfiram*.
- ¹¹⁶ a) T. Aboul-Fadl, A. El-Shorbagi, *Eur. J. Med. Chem.* **1996**, 31, 165–169. *New pro-drug approach for amino acids and amino-acid-like drugs*. b) H. Imamura, N.

- Ohtake, H. Jona, A. Shimizu, M. Moriya, H. Sato, Y. Sugimoto, C. Ikeura, H. Kiyonaga, M. Nakano, R. Hagano, S. Abe, K. Yamada, T. Hashizume, H. Morishima, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 109–113. *Structure–activity relationships of trans-3,5-disubstituted pyrrolidinylthio-1 β -methylcarbapenems. Part 1: J-111,347 and related compounds.*
- ¹¹⁷ X. Hou, Z. Ge, T. Wang, W. Guo, J. Cui, T. Cheng, C. Lai, R. Li, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4214–4219. *Dithiocarbamic acid esters as anticancer agent. Part 1: 4-Substituted-piperazine-1-carbodithioic acid 3-cyano-3,3-diphenyl-propyl esters.*
- ¹¹⁸ a) D. Fregona, L. Giovagnini, L. Ronconi, C. Marzano, A. Trevisan, S. Sitran, B. Biondi, F. Bordin, *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *93*, 181–189. *Pt(II) and Pd(II) derivatives of ter-butylsarcosinedithiocarbamate: Synthesis, chemical and biological characterization and in vitro nephrotoxicity.* b) C. Marzano, A. Trevisan, L. Giovagnini, D. Fregona, *Toxicol. Vitro* **2002**, *16*, 413–419. *Synthesis of a new platinum(II) complex: anticancer activity and nephrotoxicity in vitro.* c) G. Faraglia, D. Fregona, S. Sitran, L. Giovagnini, C. Marzano, F. Baccicchetti, U. Casellato, R. Graziani, *J. Inorg. Biochem.* **2001**, *83*, 31–40. *Platinum(II) and palladium(II) complexes with dithiocarbamates and amines: synthesis, characterization and cell assay.*
- ¹¹⁹ L. Giovagnini, E. Mancinetti, L. Ronconi, S. Sitran, L. Marchio, I. Castagliuolo, P. Brun, A. Trevisan, D. Fregona, *J. Inorg. Biochem.* **2009**, *103*, 774–782. *Preliminary chemico-biological studies on Ru(III) compounds with S-methyl pyrrolidine/dimethyl Dithiocarbamate.*
- ¹²⁰ a) N. Selvakumar, D. Srinivas, M. K. Khera, M. S. Kumar, R. N. V. S. Mamidi, H. Sarnaik, C. Charavaryamath, B. S. Rao, M. Raheem, J. Das, J. Iqbal, R. Rajagopalan, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3953–3962. *Synthesis of conformationally constrained analogues of linezolid: structure activity relationship (SAR) studies on selected novel tricyclic oxazolidinones.* b) M. Poss, E. Iwanowicz, J. Reid, J. Lin, Z. Gu, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5933–5936. *A mild and efficient method for the preparation of guanidines.* c) L. Johansson, C. Fotsch, M. D. Bartberger, V. M. Castro, M. Chen, M. Emery, S. Gustafsson, C. Hale, D. Hickman, E. Homan, S. R. Jordan, R. Komorowski, A. Li, K. McRae, G. Moniz, G. Matsumoto, C. Orihuela, G. Palm, M. Veniant, M. Wang, M. Williams, J. Zhang, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2933–2943. *2-Amino-1,3-thiazol-4(5H)-ones as Potent and Selective 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 In-*

- hibitors: *Enzyme Ligand Co-Crystal Structure and Demonstration of Pharmacodynamic Effects in C57Bl/6 Mice*.
- ¹²¹ A. Z. Halimehjani, Y. Pourshojaei, M. R. Saidi, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 32–34. *Highly efficient and catalyst-free synthesis of unsymmetrical thioureas under solvent-free conditions*.
- ¹²² a) E. Rodríguez-Fernández, J. L. Manzano, J. J. Benito, R. Hermosa, E. Monte, J. J. Criado, *J. Inorg. Biochem.* **2005**, 99(8), 1558–1572. *Thiourea, triazole and thiadiazine compounds and their metal complexes as antifungal agents*. b) G.M.S El-Bahy, B.A El-Sayed, A.A Shabana, *Vib. Spec.* **2003**, 31(1), 101–107. *Vibrational and electronic studies on some metal thiourea complexes*. c) K. R. Koch, *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 216-217, 473–488. *New chemistry with old ligands: N-alkyl- and N,N-di-alkyl-N'-acyl(aryl)thioureas in co-ordination, analytical and process chemistry of the platinum group metals*.
- ¹²³ a) Z. Zhang, P. R. Schreiner, *Synlett* **2007**, 9, 1455–1457. *Thiourea-Catalyzed Transfer Hydrogenation of Aldimines*. b) P. R. Schreiner, *Chem. Soc. Rev.* **2003**, 32, 289–296. *Metal-free organocatalysis through explicit hydrogen bonding interactions*.
- ¹²⁴ a) R. J. Staples, J. P. Fackler Jr., J. Costamagna, *Acta Cryst.* **1997**, C53, 1555–1558. *Bis(N,N'-dimethylthiourea-S)gold(I) Perchlorate and Bis(N,N'-dimethylthiourea-(S)-gold(I) Perchlorate*. b) E. A. Vizzini, E. L. Amma, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 2872–2873. *The Crystal Structure of Bis(thiourea)silver(I) Chloride. A New Type of Bridge Bond*. c) E. A. Vizzini, I. F. Taylor, E. L. Amma, *Inorg. Chem.* **1968**, 90, 1351–1357. *Electron-deficient bonding with sulfur atoms. III. Crystal and molecular structure of bis(thiourea)silver(I) chloride*.
- ¹²⁵ S. Nadeem, M. K. Rauf, S. Ahmad, M. Ebihara, S. A. Tirmizi, S. A. B. A. Badsha, *Transition Met. Chem.* **2009**, 34, 197–202. *Synthesis and characterization of palladium(II) complexes of thioureas. X-ray structures of [Pd(N,N'-dimethylthiourea)₄]Cl₂·2H₂O and [Pd(tetramethylthiourea)₄]Cl₂*.
- ¹²⁶ O. E. Piro, E. E. Castellano, R. C. V. Piatti, A. E. Bolzán, A. J. Arvia, *Acta Cryst.* **2002**, C58, m252–m255. *Two thiourea-containing gold(I) complexes*.
- ¹²⁷ O. E. Piro, R. C. V. Piatti, A. E. Bolzán, R. C. Salvarezza, A. J. Arvia, *Acta Cryst. B56* **2000**, 993–997. *X-ray diffraction study of copper(I) thiourea complexes formed in sulfate-containing acid solutions*.

- 128 F. Hanic, E. Durčanská, *Inorg. Chim. Acta* **1969**, 3, 293–298. *The crystal structure of tris(thiourea)copper(I) perchlorate* $\text{Cu}(\text{SCN}_2\text{H}_4)_3\text{ClO}_4$. b) M. R. Udupa, B. Krebs, *Inorg. Chim. Acta* **1972**, 7, 271–276. *The Crystal and Molecular Structure of Tris-(thiourea)silver(I) Perchlorate*.
- 129 W. Henderson, B. K. Nicholson, C. E. F. Rickard, *Inorg. Chim. Acta* **2001**, 320(1-2), 101–109. *Platinum(II) complexes of chelating and monodentate thiourea monoanions incorporating chiral, fluorescent or chromophoric groups*.
- 130 a) P. A. Angeli Mary, S. Dhanuskodi, *Cryst. Res. Technol.* **2001**, 36, 1231–1237. *Growth and Characterization of a New Nonlinear Optical Crystal: Bis Thiourea Zinc Chloride*. b) P. M. Ushasree, R. Muralidharan, R. Jayavel, P. Ramasamy, *J. Cryst. Growth* **2000**, 218, 365–371. *Growth of bis(thiourea) cadmium chloride single crystals - a potential NLO material of organometallic complex*.
- 131 C. Zöschinger, Diplomarbeit, LMU München, **2007**. *Entwicklung eines metallorganischen Ligandosids zur Assemblierung von Metall-Ionen in DNA*.
- 132 O. L. Acevedo, R. S. Andrews, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37(23), 3931–3934. *Synthesis of propane-2,3-diol combinatorial monomers*.
- 133 a) M. H. Caruthers, *Science* **1985**, 230, 281–285. *Gene synthesis machines: DNA chemistry and its uses*. b) S. L. Beaucage, R. P. Iyer, *Tetrahedron* **1992**, 48, 2223–2311. *Advances in the Synthesis of Oligonucleotides by the Phosphoramidite Approach*. c) T. Tanaka, R. L. Letsinger, *Nuc. Acids Res.* **1982**, 10, 3249–3260. *Syringe method for stepwise synthesis of oligonucleotides*.
- 134 P. de Frémont, N. M. Scott, E. D. Stevens, T. Ramnial, O. C. Lightbody, C. L. B. Macdonald, J. A. C. Clyburne, C. D. Abernethy, S P. Nolan, *Organometallics* **2005**, 24, 6301–6309. *Synthesis of Well-Defined N-Heterocyclic Carbene Silver(I) Complexes*.
- 135 L. G. Bonnet, R. E. Douthwaite, R. Hodgson, J. Houghton, B. M. Kariuki, S. Simonovic, S. Dalton Trans. **2004**, 3528–3535. *Synthesis, structure and reactivity of palladium(II) complexes of chiral N-heterocyclic carbene-imine and -amine hybrid ligands*.
- 136 K. Bouchmella, B. Boury, S. G. Dutremez, A. van der Lee, *Chem. Eur. J.* **2007**, 13, 6130–6138. *Molecular Assemblies from Imidazolyl-Containing Haloalkanes and Haloalkynes: Competition between Halogen and Hydrogen Bonding*.
- 137 J. Gierlich, G. A. Burley, P. M. E. Gramlich, D. M. Hammond, T. Carell, *Org. Lett.*

- 2006**, 8, 3639–3642. *Click Chemistry as a Reliable Method for the High-Density Post-synthetic Functionalization of Alkyne-Modified DNA*.
- ¹³⁸ T. S. Seo, Z. Li, H. Ruparel, J. Ju, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 609–612. *Click Chemistry to Construct Fluorescent Oligonucleotides for DNA Sequencing*.
- ¹³⁹ a) Gabriel A. Kolawole Adegboye O. Adeyemo, *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.* **1992**, 22(5), 631–651. *Copper(II) Complexes of Vitamin B₁ Analogues and Those of Structurally Related Ligands*. b) N. Hadjiliadis, J. Markopoulos, *J. C. S. Dalton* **1981**, 1635–1644. *Reactions of Hydrogenated Thiamine Derivatives with K₂[MX₄], where M is Pd^{II} or Pt^{II} and X is Cl or Br*. c) N. Hadjiliadis, J. Markopoulos, G. Pneumatikakis, D. Katakis, T. Theophanides, *Inorg. Chim. Acta*, **1977**, 25, 21–31. *Interaction of thiamine and its phosphate esters with Pt(II) and Pd(II)*.
- ¹⁴⁰ C. Kaul, Dissertation, LMU München, **2011**. *Replikation und Amplifizierung des Metall-Salen-Basenpaars*.
- ¹⁴¹ J. Sharma, R. Chhabra, H. Yan, Y. Liu, *Chem. Commun.* **2008**, 2140–2142. *A facile in situ generation of dithiocarbamate ligands for stable goldnanoparticle–oligonucleotide conjugates*.
- ¹⁴² M. Ober, Dissertation, LMU München, **2005**. *Synthese eines carbozyklischen Analogs des Formamidopyrimidin-dG DNA-Schadens: Untersuchungen zur Replikation und Reparatur*.
- ¹⁴³ K. R. G. Devi, D. N. Sathyanarayana, S. Manogran, *Spectrochim. Acta* **1981**, 37A (8), 633–638. *Proton NMR and infrared investigations of secondary dithiocarbamate ester-molecular conformation and vibrational assignment of S-methyl N-methyl dithiocarbamate*.
- ¹⁴⁴ a) M. Oki, H. Nakanishi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1971**, 44, 3419–3423. *Conformations of the Esters. V. The Conformations of Carbonates*. b) M. Oki, H. Nakanishi, *Bull. Ch. Soc. Jpn.* **1972**, 45, 1993–1995. *Conformations of the Esters. VI. The Conformations of Monothiocarbonates*.
- ¹⁴⁵ M. Oki, H. Nakanishi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1971**, 44, 3148–3151. *Conformations of the Esters. IV. The Conformations of Carbamates*.
- ¹⁴⁶ L. Zhengyan, R. Mattes, H. Schnöckel, M. Thünemann, E. Hunting, U. Hohnke, C. Mendel, *J. Mol. Struct.* **1984**, 117, 117–127. *Molecular structure, vibrational spectra and normal coordinate analyses of O-methylthiocarbamate and S-methylthio-carbamate*.

- 147 a) K. Klaeser, G. Gattow, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1981**, 481, 126–134. *Über Chalkogenolate. 100. Untersuchungen über Monothiocarbamidsäure. 2. S-Methyl- und O-Methylmonothiocarbamat, 2,4,5-Trioxo-thiazolidin-(1,3).* b) L. Zhengyan, R. Mattes, H. Schnöckel, M. Thünemann, E. Hunting, U. Hohnke, C. Mendel, *J. Mol. Struct.* **1984**, 117, 117–127. *Molecular structure, vibrational spectra and normal coordinate analyses of O-methylthiocarbamate and S-methylthiocarbamate.*
- 148 a) K. R. G. Devi, D. N. Sathyanarayana, S. Manogran, *Spectrochim. Acta* **1981**, 37A, 31–36. *Molecular vibrations and conformation of primary dithiocarbamate ester. Infrared and NMR studies on S-methyl dithiocarbamate.* b) A. Vijay, D. N. Sathyanarayana, *J. Mol. Struct.* **1994**, 327, 181–191. *Ab initio study of molecular conformations, ground state force field and vibrational spectra of S-methyl dithiocarbamate.* b) K. R. G. Devi, S. Manogran, D. N. Sathyanarayana, *Phosphorus and Sulfur* **1981**, 11, 47–54. *Conformation and C-N rotational barrier of dithiocarbamate esters – NMR and molecular orbital studies.*
- 149 F. Bonati, R. Ugo, *J. Organomet. Chem.* **1967**, 10, 257–268. *Organotin(IV) N,N-disubstituted dithiocarbamates.*
- 150 S. Kumar, N. K. Kaushik, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1981**, 107(2), 161–169. *Platinum Metal Complexes of Cycloalkyl Dithiocarbamates.*
- 151 M. C. Uzagare, K. J. Padiya, M. M. Salunkhea, Y. S. Sanghvi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3537–3540. *NBS–DMSO as a Nonaqueous Nonbasic Oxidation Reagent for the Synthesis of Oligonucleotides.*
- 152 H. Saneyoshi, K. Miyata, K. Seib, M. Sekine, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 8945–8947. *1,1-Dihydroperoxycyclododecane as a new, crystalline non-hygroscopic oxidizer for the chemical synthesis of oligodeoxyribonucleotides.*
- 153 M. Manoharan, Y. Lu, M. D. Casper, G. Just, *Org. Lett.* **2000**, 2, 243–246. *Allyl Group as a Protecting Group for Internucleotide Phosphate and Thiophosphate Linkages in Oligonucleotide Synthesis: Facile Oxidation and Deprotection Conditions.*
- 154 Y. Hayakawa, M. Uchiyama, R. Noyori, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27(35), 4191–4194. *Nonaqueous oxidation of nucleoside phosphites to the phosphates.*
- 155 R. J. Cvetovich, *Org. Proc. Res. Dev.* **2010**, 14, 295–297. *Hydrogen Peroxide Oxidation of Phosphite Triesters in Oligonucleotide Syntheses.*
- 156 J.-L. Fourrey and J. Varenne, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26(9), 1217–1220. *Introduction*

- of a nonaqueous oxidation procedure in the phosphite triester oligonucleotide synthesis.
- 157 M. Kataoka, A. Hattori, S. Okino, M. Hyodo, M. Asano, R. Kawai, Y. Hayakawa, *Org. Lett.* **2001**, 3(6), 815–818. *Ethyl(methyl)dioxirane as an Efficient Reagent for the Oxidation of Nucleoside Phosphites into Phosphates under Nonbasic Anhydrous Conditions.*
- 158 I. Okamoto, K. Seiob, M. Sekine, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 583–585. *Improved synthesis of oligonucleotides containing 2-thiouridine derivatives by use of diluted iodine solution.*
- 159 a) S. Furumoto, *Nipp. Kagaku Zasshi* **1970**, 91(4), 359–361. *Oxidation of N,N'-disubstituted thioureas with N-bromosuccinimide.* b) A. R. Pourali, *Monatsh. Chem.* **2005**, 136, 733–737. *Facile Desulfurization of Thioamides and Thioureas with Tetrabutylammonium Periodate under Mild Conditions.*
- 160 a) C. Crestini, E. Mincione, R. Saladino, R. Nicoletti, *Tetrahedron* **1994**, 50, 3259–3272. *Oxidation of substituted 2-thiouracils and pyrimidine-2-thione with ozone and 3,3-dimethyl-1,2-dioxirane.* b) T. Tabuchi, M. Nojima, S. Kusabayashi, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 3043–3046. *Reaction of thioketones with carbonyl oxides and 3,3-dimethyl-1,2-dioxirane. [3 + 2] Cycloaddition vs. oxygen atom transfer.*
- 161 A. R. Pourali, *Monatsh. Chem.* **2005**, 136, 733–737. *Facile Desulfurization of Thioamides and Thioureas with Tetrabutylammonium Periodate under Mild Conditions.*
- 162 K. S. Kocchar, D. A. Cottrel, H. W. Pinnick, *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 1323–1326. *Facile Conversion Of Thioamides Into Amides.*
- 163 A. Kamal, M. V. Rao, A. B. Rao. *Chem. Lett.* **1990**, 655–656. *Enzymatic Oxidative Conversion of Thio to Oxo by Baker's Yeast in Thiocarbamates and Thioureas.*
- 164 M. Mikolajczyk, J. Luczak, *Synthesis* **1974**, 114–115. *Dimethyl Sulfoxide Oxidations: An Iodine-catalysed Conversion of Thio- or Selenophosphoryl and Thiocarbonyl Compounds into Their Oxygen Analogues.*
- 165 Y. Kinoshita, S. Kubota, S. Hashimoto, H. Ishikawa, *Agr. Biol. Chem.* **1973**, 37(3), 701–702. *Oxidation of Thionocarbamates into Sulfur-free Carbamates by an Iodine-DMSO System.*
- 166 S. K. Tandel, S. Rajappa, S. V. Pansare, *Tetrahedron* **1993**, 49(34), 7479–7486. *Conversion of Thiocarbamates to Carbamates.*

- ¹⁶⁷ G. H. Clever, Dissertation, LMU München, **2006**. *Synthesis and Characterization of a Metal-Salen Base Pair for the Assembly of Programmed Metal Arrays inside the DNA Double Helix*.
- ¹⁶⁸ D. Chevré, P. Metzner, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 8983–8986. *Oxidation of Dithiocarbamates and Synthesis of a Stable Sulfine*.
- ¹⁶⁹ A. J. Hall, D. P. N. Satchell, *J.C.S. Perkin II* **1976**, 1274–1278. *The Products, Kinetics, and Mechanisms of Metal Ion-promoted Hydrolyses of Thioimide Esters and the Effects of Hydrogen Ions on Thioimide Ester Hydrolyses*.
- ¹⁷⁰ a) I. Thomsen, K. Clausen, S. Scheibye, S.-O. Lawesson, *Org. Synth.* **1990**, 7, 372. *Thiation with 2,4-Bis(4-methoxyphenyl)-1,3,2,4-Dithiadiphosphetane 2,4-disulfide: N-Methylthiopyrrolidone*. b) H. Z. Lecher, R. A. Greenwood, K. C. Whitehouse, T. H. Chao, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 5018–5022. *The Phosphonation of Aromatic Compounds with Phosphorus Pentasulfide*. c) M. Jesberger, T. P. Davis, L. Barner, *Synthesis* **2003**, 13, 1929–1958. *Applications of Lawesson's Reagent in Organic and Organometallic Syntheses*.
- ¹⁷¹ a) S. Baillet, J.-P. Behr, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36(49), 8981–8984. *Deoxyribosylurea and deoxyribosylformamide oligonucleotides*. b) A. Guy, S. Ahmod, R. Téoule, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31(40), 5745–5748. *Insertion Of The Fragile 2'-Deoxyribosylurea Residue Into Oligodeoxynucleotides*. c) A. Guy, H. Bazin, R. Téoule, *Nucleosides, Nucleotides* **1991**, 10, 565–566. *Synthesis Of Oligodeoxynucleotides Bearing A Radiation Induced DNA Damage: Deoxyribosylurea And Deoxyribosylformamide*.
- ¹⁷² a) T. Fekner, X. Li, M. K. Chan, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 4171–4179. *Pyrrolysine Analogs for Translational Incorporation into Proteins*. b) C. Polycarpo, A. Ambrogelly, A. Bérubé, S. M. Winbush, J. A. McCloskey, P. F. Crain, J. L. Wood, D. Söll, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, 101(34), 12450–12454. *An aminoacyl-tRNA synthetase that specifically activates pyrrolysine*. c) M. A. Gaston, L. Zhang, K. B. Green-Church, J. A. Krzycki, *Nature* **2011**, 471, 647–651. *The complete biosynthesis of the genetically encoded amino acid pyrrolysine from lysine*. d) P. R. Chen, D. Groff, J. Guo, W. Ou, S. Cellitti, B. H. Geierstanger, P. G. Schultz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48(22), 4052–4055. *A Facile System for Encoding Unnatural Amino Acids in Mammalian Cells*.

- 173 T. Yanagisawa, R. Ishii, R. Fukunaga, T. Kobayashi, K. Sakamoto, S. Yokoyama, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 1187–1197. *Multistep Engineering of Pyrrolysyl-tRNA Synthetase to Genetically Encode N^ε-(o-Azidobenzyloxycarbonyl)lysine for Site-Specific Protein Modification.*
- 174 a) Z. Goren, M. J. Heeg, S. Mobashery, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 7186–7188. *Facile Chloride Substitution of Activated Alcohols by Triphosgene: Application to Cephalosporin Chemistry.* B) H Shi, W Hu, Y. Sun, *J. Chem. Res.* **2004**, 708–709. *Preparation of chloroformates using bis(trichloromethyl)carbonate.*
- 175 T. W. Greene, P. G. M. Wuts, Wiley, New York, 3rd ed., **1999**. *Protective Groups in Organic Synthesis.*
- 176 J. Sun, Y. Dong, L. Cao, X. Wang, S. Wang, Y. Hu, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 8932–8934. *Highly Efficient Chemoselective Deprotection of O,O-Acetals and O,O-Ketals Catalyzed by Molecular Iodine in Acetone.*
- 177 a) E. Marcantoni, F. Nobili, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4183–4184. *Cerium(III) Chloride, a Novel Reagent for Nonaqueous Selective Conversion of Dioxolanes to Carbonyl Compounds.* b) R. Dalpozzo, A. De Nino, L. Maiuolo, A. Procopio, A. Tagarelli, G. Sindona, G. Bartoli, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9093–9095. *Simple and Efficient Chemoselective Mild Deprotection of Acetals and Ketals Using Cerium(III) Triflate.* c) M. D. Carrigan, D. Sarapa, S. Dusan, C. Russell, L. C. Wieland, R. S. Mohan, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1027–1030. *A Simple and Efficient Chemoselective Method for the Catalytic Deprotection of Acetals and Ketals Using Bismuth Triflate.*
- 178 B. C. Ranu, R. Jana, S. Samanta, *Adv. Synth. Catal.* **2004**, *346*, 446–450. *A Simple, Efficient and General Procedure for Acetalization of Carbonyl Compounds and Deprotection of Acetals under the Catalysis of Indium(III) Chloride.*
- 179 C. Wirges, Dissertation, LMU München, **2009**. *Funktionalisierte DNA durch enzymatischen Direkteinbau von Nukleosidderivaten sowie durch postsynthetische Click-Modifikation.*
- 180 E. Kaya, K. Gutsmedl, M. Vrabel, M. Müller, P. Thumbs, T. Carell, *Chem. Bio. Chem.* **2009**, *10*, 2858–2861. *Synthesis of Threefold Glycosylated Proteins using Click Chemistry and Genetically Encoded Unnatural Amino Acids.*
- 181 a) J. P. Jordan, R. H. Grubbs, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5244–5247. *Small-Molecule N-N-Heterocyclic-Carbene-Containing Olefin-Metathesis Catalysts for Use in Water.* b) S. Diez-González, A. Correa, L. Cavallo, S. P. Nolan, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7558–

7564. (NHC)Copper(I)-Catalyzed [3+2] Cycloaddition of Azides and Mono- or Di-substituted Alkynes.
- 182 H. Müller, Dissertation, LMU München, **2008**. *Synthese carbocyclischer Analoga oxidativ erzeugter DNA-Schäden*.
- 183 G. D. Fasman, CRC Press, Cleveland, Ohio, 3 ed., **1975**. *Optical properties of nucleic acids, absorption and circular dichroism spectra*.
- 184 S. L. Barnholtz, J. D. Lydon, G. Huang, M. Venkatesh, C. L. Barnes, A. R. Ketrings, S. S. Jurisson, *Inorg. Chem.* **2001**, 40(5), 972–976. *Syntheses and Characterization of Gold(III) Tetradentate Schiff Base Complexes. X-ray Crystal Structures of [Au(sal2pn)]Cl·2.5H₂O and [Au(sal2en)]PF₆*.
- 185 D. Albanese, C. Ghidoli, M. Zenoni, *Org. Proc. Res. Dev.* **2008**, 12(4), 736–739. *Concise Synthesis of Vinylheterocycles through β -Elimination under Solventless Phase Transfer Catalysis Conditions*.
- 186 R. R. Williams, N. J. Summit, J. K. Cline, US Patent 2336825, **1943**. *Pyrimidine Compounds*.
- 187 F. K. W. Schnatter, Ö. Almarsson, T. C. Bruice, *Tetrahedron* **1991**, 41, 8687–8700. *The synthesis of a porphyrin with a hydrocarbon encapsulated face*.
- 188 S. J. Schmidt, US Patent 4064242, **1977**. *7-Acylamino-3-[1-(2,3-dihydroxypropyl)-tetrazole-5-ylthiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acids*.
- 189 T. Tedeschi, S. Sforza, F. Maffei, R. Corradini, R. Marchelli, *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49(33), 4958–4961. *A Fmoc-based submonomeric strategy for the solid phase synthesis of optically pure chiral PNAs*.
- 190 M. Antopolsky, A. Azhayev, *Helv. Chim. Acta* **1999**, 82(12), 2130–2140. *Stepwise solid-phase synthesis of peptide-oligonucleotide conjugates on new solid supports*.
- 191 M. H. Lyttle, D. Hudson, R. M. Cook, *Nucleic Acids Res.* **1996**, 24(14), 2793–2798. *A new universal linker for solid phase DNA synthesis*.
- 192 M. Carter, PCT Int. Appl., WO 9415920 A1 19940721, **1994**. *Benzanilide derivatives as 5-HT_{1D}-antagonists*.
- 193 H.-J. Cristau, P. P. Cellier, J.-F. Spindler, M. Taillefer, *Chem. Eur. J.* **2004**, 10(22), 5607–5622. *Highly efficient and mild copper-catalyzed N- and C-arylations with aryl bromides and iodides*.

- ¹⁹⁴ M. G. Kelly, S. Xu, N. Xi, P. Miller, J. F. Kincaid, C. Ghiron, T. Coulter, PCT Int. Appl., WO 2003099776 A1 20031204, **2003**. *Preparation of arylalkylamines as calcium receptor modulators for treatment of hyperparathyroidism and osteoporosis.*
- ¹⁹⁵ J. P. Collman, M. Zhong, S. Costanzo, C. Zhang, *J. Org. Chem.* **2001**, 66(24), 8252–8256. *New imidazole-based tripodal ligands as CuB site mimics of cytochrome c oxidase.*
- ¹⁹⁶ a) C. J. Lovely, H. Du, R. Sivappa, M. R. Bhandari, Y. He, H. V. Dias, *J. Org. Chem.* **2007**, 72(10), 3741–3749. *Preparation and Diels-Alder Chemistry of 4-Vinylimidazoles.* b) F. B. Panosyan, I. W. J. Still, *Canad. J. Chem.* **2001**, 79(7), 1110–1114. *An efficient route to 5-iodo-1-methylimidazole: synthesis of xestomanzamine A.*